

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR INNERE MEDIZIN I
PROF. DR. MARTINA MÜLLER-SCHILLING
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**INFLUENZAIMMUNISIERUNG BEI IMMUNSUPPRIMIERTEN PATIENTEN
VERGLEICH DER IMMUNOGENITÄT DES TRIVALENTEN INFLUENZA-SPALTIMPFSTOFFES DER
SAISON 2003/2004 ANHAND SEROLOGISCHER TITERBESTIMMUNGEN BEI
IMMUNSUPPRIMIERTEN PATIENTEN UND IMMUNKOMPETENTEN PERSONEN**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Stefan Platzer

2013

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert
Erster Berichterstatter: Prof. Dr. Bernd Salzberger
Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Jilg
Tag der mündlichen Prüfung: 26.03.2013

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Influenzaviren.....	1
1.1.1 Aufbau	1
1.1.2 Infektion.....	1
1.1.3 Oberflächenproteine.....	2
1.1.3.1 Antigendrift.....	3
1.1.3.2 Antigenshift.....	3
1.2 Immunität.....	4
1.2.1 Primäre Immunität.....	4
1.2.1.1 Unspezifisches Immunsystem.....	4
1.2.1.2 Spezifisches Immunsystem.....	5
1.2.1.2.1 Induktion.....	5
1.2.1.2.2 Humorale Immunität.....	6
1.2.1.2.3 Zelluläre Immunität.....	6
1.2.2 Sekundäre Immunität.....	7
1.3 Erkrankung, Diagnostik und Therapie.....	7
1.3.1 Symptome der akuten Influenzainfektion.....	7
1.3.2 Diagnostik.....	8
1.3.3 Verlauf und Komplikationen.....	9
1.3.4 Antivirale Medikamente.....	9
1.4 Epidemiologie.....	10
1.4.1 Epidemie.....	10
1.4.2 Pandemie.....	11
1.4.3 Verteilung der Influenza in der Bevölkerung.....	11
1.5 Prävention und Immunisierung.....	13
1.5.1 Indikation zur Immunisierung und Impfstoffe.....	13
1.5.2 Immunogenität.....	13
1.5 Hintergrund und Fragestellung.....	14
2. Material und Methoden.....	16
2.1 Untersuchungskollektiv.....	16
2.1.1 Immunsupprimierte Probanden.....	16
2.1.2 Immunkompetente Probanden.....	16
2.2 Labordiagnostisches Material.....	16
2.2.1 Chemikalien.....	16
2.2.2 Antikörper und Antiseren.....	17
2.2.3 Impfstoff und Antigen.....	17
2.2.4 Verbrauchsmaterial.....	17
2.2.5 Geräte.....	18
2.3 Methoden.....	18
2.3.1 Immunisierung.....	18
2.3.2 Blutentnahmen.....	18
2.3.3 Serumgewinnung.....	19

2.3.4 Indirekter Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	19
2.3.4.1 ELISA zur Bestimmung influenzaspezifischer Antikörper im Serum (Virotech).....	19
2.3.4.2 ELISA zur Bestimmung influenzaspezifischer Antikörper im Serum (Virion/Serion).....	20
3. Ergebnisse.....	22
3.1 Untersuchungskollektiv.....	22
3.1.1 Immunsupprimierte Probanden.....	22
3.1.2 Immunkompetente Probanden.....	24
3.2 ELISA (Virotech).....	27
3.2.1 Immunkompetente Probanden (Kontrolle).....	27
3.2.2 Patienten aus der gastroenterologischen Onkologie (Gonko).....	27
3.2.3 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung (Darm).....	27
3.2.4 Patienten nach Lebertransplantation (LTX).....	28
3.2.5 Patienten nach Nierentransplantationm (NTX).....	28
3.2.6 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (KMT).....	28
3.2.7 Patienten unter zytostatischer Therapie bei unterschiedlichen Malignomen (Onko).....	29
3.2.8 Patienten mit nachgewiesener HIV-Infektion (HIV)....	29
3.2.9 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen (Rheuma).....	29
3.2.10 Modifikationen.....	31
3.2.10.1 Zusammenfassungen einzelner Patientengruppen.....	31
3.2.10.2 Einfluss einer immunsuppressiven Therapie mit Mycophenolat mofetil.....	34
3.2.10.3 Einfluss der absoluten Lymphozytenzahl bei den onkologischen Patienten.....	36
3.2.10.4 Einfluss der CD4-Zellzahl bei HIV-positiven Patienten.....	37
3.2.10.5 Einfluss der immunsuppressiven Therapie bei rheumatologischen Patienten.....	38
3.3 ELISA (Virion/Serion).....	39
3.3.1 Immunkompetente Probanden (Kontrolle).....	39
3.3.2 Patienten aus der gastroenterologischen Onkologie (Gonko).....	39
3.3.3 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung.....	39
3.3.4 Patienten nach solider Organtransplantation (sTX)....	40
3.3.5 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (KMT).....	40
3.3.6 Patienten unter zytostatischer Therapie bei unterschiedlichen Malignomen (Onko).....	40
3.3.7 Patienten mit nachgewiesener HIV-Infektion (HIV)....	41

3.3.8 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen (Rheuma).....	41
3.4 Vorbestehende protektive influenzaspezifische IgG-Titer.....	43
3.4.1 Anteil an Personen mit vorbestehendem protektiven Titer in den einzelnen Patientengruppen.....	43
3.4.2 Auswertung Virotech-ELISA ohne Patienten mit vorbestehenden protektiven Titer.....	45
3.5 Vergleich der Ergebnisse im Virotech-ELISA und Virion/Serion-ELISA.....	48
 4. Diskussion.....	 50
5. Zusammenfassung.....	63
6. Literaturverzeichnis.....	65
7. Abbildungsverzeichnis.....	75
8. Abkürzungen.....	77
9. Lebenslauf.....	79
10. Danksagung.....	80

1. Einleitung

1.1 Influenzaviren

1.1.1 Aufbau

Influenzaviren gehören zur Familie der Orthomyxoviridae. Basierend auf den antigenen Eigenschaften des Nukleoproteins werden sie in die Subtypen A, B und C unterteilt. Influenza A-Viren werden aufgrund der antigenen Eigenschaften ihrer Oberflächenproteine weiter in Subtypen unterschieden. Während Viren vom Typ B und C ausschließlich menschliche Erreger sind, infizieren Viren vom Typ A primär Vögel, aber auch Schweine und Pferde. Nur wenige antigene Subtypen sind als menschliche Erreger bekannt.

Influenzaviren besitzen ein segmentiertes Genom aus acht einzelsträngigen RNA-Molekülen in negativer Polarität, das von einer Lipidhülle umgeben ist. Verpackt im Ribonukleoproteinkomplex (RNP) sind die RNA-Moleküle assoziiert mit dem Nukleoprotein (NP) und der RNA-abhängigen RNA-Polymerase, welche aus den Untereinheiten polymerase basic protein 1 (PB1) und 2 (PB2), sowie dem polymerase acidic protein (PA) besteht. Das Nukleoprotein bildet einen Kern, um den die RNA in Form einer helikalen Struktur gewickelt ist. Der Ribonukleoproteinkomplex ist umgeben vom Matrixprotein 1. Die Virushülle stammt aus der Wirtszellmembran und enthält die drei viralen Proteine Hämagglutinin (HA), Neuraminidase (NA) und M2 Protein. Ein weiterer Bestandteil des Virus ist das nuclear export protein (NEP), auch bekannt als non-structural protein 2 (NS2), welches im Zusammenhang mit dem Matrixprotein 1 steht (35).

1.1.2 Infektion

Influenzaviren binden an die Wirtszelle über die Interaktion zwischen Hämagglutinin und sialinsäurehaltigen Oberflächenrezeptoren der Wirtszelle. Anschließend werden die Viren durch rezeptorvermittelte Endozytose internalisiert. Der saure pH in den Endosomen bewirkt eine strukturelle Änderung im Hämagglutinin, was zur Fusion zwischen Virus- und Endosomenmembran und damit zur Freisetzung viraler Ribonukleoproteine ins Zytoplasma führt (35). Bei der strukturellen Veränderung handelt es sich um die Spaltung des Vorläufer-Hämagglutinin (HA0) in die Unterein-

heiten HA1 und HA2 (48). Bereits vor der Fusion katalysiert das M2 Membranprotein den Einstrom von Protonen in die Virionen, was zu einer Dissoziation des M1 Proteins vom Ribonucleoproteinkomplex führt. Diese Abtrennung ist essentiell für den weiteren Transport der RNPs in den Nukleus der Wirtszelle. Im Nukleus katalysiert die virale RNA-abhängige RNA-Polymerase Transkription und Replikation (35). Für die RNA-Prozessierung sind Influenzaviren von diversen zellulären Mechanismen abhängig (82). In den spezifischen Mechanismen, welche zur Interaktion des Virus mit Transkription, Prozessierung und Transport von mRNA der Wirtszelle führen, spielt das NS1 Protein eine zentrale Rolle. Für die durch Influenzaviren induzierte Apoptose infizierter Zellen sind virale dsRNA, sowie die Proteine NS1 und Neuraminidase verantwortlich. Dabei induziert die dsRNA eine IFN-Antwort der Wirtszelle als frühen Abwehrmechanismus. NS1 fungiert als IFN-Antagonist durch Bindung und Sequestrierung viraler dsRNA.

Die Generierung neuer Virione beginnt im Zellkern durch Bindung neu synthetisierter vRNA an NP. M1 akkumuliert im Nukleus, interagiert mit den RNPs und vermittelt gemeinsam mit dem NEP deren Migration aus dem Nukleus. Die Interaktion zwischen M1, assoziiert mit den RNPs, und den zytoplasmatischen Domänen von HA und NA ermöglicht die Ansammlung viraler Komponenten und die Generierung neuer Virione (35).

1.1.3 Oberflächenproteine

HA und NA sind Glykoproteine, welche Kohlenhydratseitenketten enthalten und in der äußeren Lipidmembran verankert sind. Sie bilden die antigenen Determinanten der äußeren Virusoberfläche.

HA ist das dominierende Oberflächenantigen und sorgt für die Bindung an sialinsäurehaltige Rezeptoren der Wirtszelle. Die Sialinsäure der Zellrezeptoren variiert je nach Spezies und Gewebe in ihrer chemischen Konfiguration, woraus eine Wirtsspezifität der Influenzaviren resultiert.

NA spaltet sialinsäurehaltige Rezeptoren der Wirtszelle ab und ermöglicht die Freisetzung neu gebildeter Viren. Sie entfernt zudem sialinsäurehaltige Virusinhibitoren des Respirationstrakts und beeinflusst intrazellulär die Glykosylierung des HA.

Die Lokalisation der Kohlenhydratseitenketten beeinflusst die Antigenität des HA. Änderungen in der Glykosylierung des HA sind assoziiert mit dem Auftreten signifikanter Driftvarianten (35).

1.1.3.1 Antigendrift

Grundlage der Antigendrift bilden Anhäufungen von Punktmutationen in der Aminosäuresequenz von HA und NA. Antigendrift wird bei allen drei Subtypen von Influenza A Viren, sowie bei Influenza B Viren beobachtet (115). Sie zeigen jedoch unterschiedliche Erscheinungsraten von neuen Driftvarianten.

Sowohl genetische als auch immunologische Ursachen bilden die Grundlage für die Antigendrift (50). Mutationen resultieren zum einen aus Fehlern während der RNA-Replikation, da die RNA-Polymerase über keinen proofreading-Mechanismus verfügt (70). RNA-Viren zeigen daher eine etwa 10^6 fach höhere Mutationsrate als DNA-Viren. Zum anderen wird an den antigenen Stellen des HA1 eine viermal höhere Rate an Nukleotidsubstitutionen als bei allen acht RNA-Segmenten im Durchschnitt beobachtet. Bei Influenza A Viren resultieren fast 50% der Nukleotidsubstitutionen der RNA Segmente für HA oder NA in einer Aminosäureänderung, eine höhere Rate als für zufällige Mutationen erwartet. Innerhalb dieser Regionen überwiegt also scheinbar unter positivem Selektionsdruck die nicht synonyme Nukleotidsubstitution (50).

1.1.3.2 Antigenshift

Grundlage für den Antigenshift bildet das segmentierte Genom der Influenzaviren. Ist eine Zelle gleichzeitig mit zwei verschiedenen Influenzaviren infiziert, können die 16 RNA-Segmente im sogenannten Reassortment frei zu neuen Viren kombiniert werden. Das HA bildet für den menschlichen Organismus das Hauptantigen. Entsteht durch Reassortment ein Virus, bei dem das ursprünglich HA durch das eines aviären Virus ersetzt wurde, existieren in der menschlichen Population keine neutralisierenden Antikörper und das neue Virus kann sich im Rahmen einer Pandemie weltweit schnell ausbreiten (93). HA Moleküle verfügen über eine Rezeptorspezifität. Während aviäre Viren im aviären Gastrointestinaltrakt an Sialinsäure mit $\alpha 2,3$ Galaktosebindung binden, bevorzugen humane Viren Sialinsäure mit $\alpha 2,6$

Galaktosebindung, wie sie im menschlichen Respirationstrakt vorkommen (70). Schweine verfügen in ihrem Respirationstrakt über beide Arten von Rezeptoren und eignen sich damit besonders als Ort für Reassortment. Die Spezifität für $\alpha 2,6$ gebundene Sialinsäure stellt jedoch keine unbedingte Voraussetzung für die Bildung eines pandemischen Virus dar (93).

In Wasservögeln wurden bisher 16 serologisch und genetisch verschiedene HA- und neun verschiedene NA-Subtypen identifiziert (37). Während bei Vögeln alle Subtypen in fast allen Kombinationen gefunden werden, sind Subtypen und Kombinationen bei Menschen beschränkt. Bisher konnten bei Menschen hauptsächlich die HA-Subtypen 1, 2 und 3, sowie die NA-Subtypen 1 und 2 nachgewiesen werden. Neben dem weltweit vereinzelt auftretenden humanen Infektionen mit verschiedenen aviären Viren im Bereich begrenzter Geflügelepidemien, z. B. H7N3 2004 in Kanada, kommt es seit 1997 in Staaten Südostasiens im Rahmen rezidivierender Geflügelepidemien wiederholt zu direkten Übertragungen hochpathogener aviärer Viren vom Subtyp H5N1 auf Menschen, welche in etwa der Hälfte der Fälle zu Erkrankungen mit tödlichem Verlauf führten (93). Trotz der Beobachtung einer relativ schnellen Evolution von H5N1-Viren existiert bis dato kein Nachweis einer effizienten Übertragung der Viren zwischen Menschen (59). Dennoch birgt das endemische Auftreten von Influenza bei Geflügeltieren das Risiko von Reassortment aviärer und humaner Influenzaviren und damit die Gefahr der Entstehung eines pandemischen Virus (48).

1.2 Immunität

1.2.1 Primäre Immunität

1.2.1.1 Unspezifisches Immunsystem

Die meisten Influenzaviren werden innerhalb weniger Stunden nach Infektion vom unspezifischen Immunsystem erkannt und zerstört. Inhibitorische Faktoren im Mukus des Respirationstraktes, welche ähnlich oder identisch den Sialinsäure-haltigen Rezeptoren der Zellen sind, reduzieren für virales HA die Möglichkeit, potentielle Wirtszellen zu erreichen (107). Nasenspülflüssigkeiten experimentell mit Influenzaviren infizierter Menschen enthalten die pyrogene Zytokine IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α und IFN- γ (16). IL-12 bewirkt eine bevorzugte Ausreifung von undifferenzierten T-Zellen zu TH-1 Zellen (78). Die Sekretion von IL-12 führt zudem zur Aktivierung von NK-

Zellen. NK-Zellen limitieren die Virusaussaat durch Perforin vermittelte Lyse infizierter Zellen. Makrophagen vermitteln die Lyse infizierter Zellen durch Apoptose-abhängige Phagozytose (107). Das Komplementsystem ist essentiell für eine protektive antivirale Antikörperantwort (8). Dies zeigt die erhöhte Mortalität C5-defizienter Mäuse nach Infektion mit Influenzaviren (107).

1.2.1.2 Spezifisches Immunsystem

1.2.1.2.1 Induktion

Antigen präsentierende Zellen (APC) wie Makrophagen und dendritische Zellen übernehmen bei der Induktion des spezifischen oder adaptiven Immunsystems eine Schlüsselrolle. Sie phagozytieren exogene virale Antigene bzw. infizierte Zellen und präsentieren deren Peptide gebunden an MHC-II Moleküle. CD4⁺ TH1- und TH2-Helferzellen erkennen die präsentierten Antigene und werden durch Zytokine der APC aktiviert. TH1-Zellen fördern durch Sekretion von IL-2 und IFN- γ vor allem die Proliferation von zytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) (107). Die Sekretion von IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10 durch TH2-Zellen ist essentiell für die Antikörperproduktion (8). Weiter vermitteln TH1-Zellen durch Sekretion von IFN- γ eine Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ, woraus eine Hemmung der Virusreplikation resultiert. CTL erkennen Komplexe aus Antigen und MHC-I Molekülen auf virusinfizierten Epithelzellen und lysieren diese durch Exozytose von Perforin und Granzyme (107). Das Zytokin IFN- γ wird hauptsächlich von aktivierten CD4⁺ und CD8⁺ Zellen gebildet und verfügt über einen stimulierenden Einfluss auf unspezifische Effektorzellen sowie über antiproliferative und antivirale Wirkung. Zudem stimuliert IFN- γ die Expression von MHC-I und MHC-II, wodurch die humorale und zelluläre Immunantwort verstärkt wird (94).

Die Immunantwort der Schleimhaut im oberen Respirationstrakt wird im nasopharyngeal assoziierten Lymphgewebe (NALT) induziert. Dieses bildet das Induktionsgewebe sowohl für Antikörper bildende Zellen, als auch für die virusspezifische zelluläre Immunantwort der Schleimhaut (107).

1.2.1.2.2 Humorale Immunität

Das humorale System produziert Antikörper gegen verschiedene Influenza-Antigene. Antikörper gegen die Oberflächenproteine HA und NA vermitteln Resistenz gegen Infektion, während Antikörper gegen die konservierten inneren Antigene des Virus nicht protektiv wirken. Besonders HA-spezifische Antikörper sind für die Virusneutralisation und damit für die Krankheitsprävention wichtig.

Das Schleimhautgewebe ist die Haupteintrittspforte für Influenzaviren und steht an erster Linie bei der Abwehr der Infektion. Dabei sind sekretorisches IgA und IgM die wichtigsten neutralisierenden Antikörper gegen Schleimhautpathogene. Nasensekrete enthalten primär neutralisierende IgA-Antikörper gegen HA und NA, welche lokal aktiv sezerniert werden (24). Die dimeren sekretorischen IgA-Antikörper können auf ihrem Weg durch die Epithelzellen durch aktive Transzytose neu synthetisierte virale Proteine binden und so den Zusammenbau der Viren behindern (107).

Die Infektion induziert eine signifikante Akkumulation von Lymphozyten im NALT, welche am Tag 7 nach Infektion ihren Höhepunkt erreicht. Parallel dazu entwickelt die Schleimhaut ab dem fünften Tag nach Infektion eine virusspezifische Antikörperantwort, welche am siebten Tag ihren Peak erreicht. Das Auftreten der Antikörper korreliert invers mit dem Abfall des Virustiters im Bereich der Nasenschleimhaut (107).

HA-spezifische Antikörper im Serum sind das am besten bestimmbare Korrelat für den Schutz gegen Influenza. Serumantikörper spielen sowohl bei Resistenz als auch bei Restitution einer Influenzainfektion eine Rolle. Während der Erstinfektion können die drei Haupt-Ig-Klassen innerhalb 10-14 Tagen bestimmt werden. IgA und IgM erreichen einen Peak nach zwei Wochen und beginnen darauf wieder abzufallen. IgG erreichen vier bis sechs Wochen nach Infektion einen Peak (24).

1.2.1.2.3 Zelluläre Immunität

CTL erkennen Komplexe aus Antigen und MHC-I Molekülen auf virusinfizierten Epithelzellen und lysieren diese durch Exozytose von Perforin und Granzyme. Nach Stimulierung durch CD4⁺ TH1-Zellen reichern sie sich ab dem fünften Tag nach Infektion in der Nasenschleimhaut infizierter Mäuse an und erreichen am siebten Tag einen Peak. CTL tragen durch Minimierung der Virusaussaat neben den

sekretorischen IgA-Antikörpern zur Restitution des oberen Respirationstrakts bei (107). Dabei schützen sie vor Influenza-assoziierten Komplikationen, tragen jedoch nicht zur Prävention einer Infektion bei. Im Blut infizierter oder geimpfter Personen ist die primäre zytotoxische Antwort innerhalb 6-14 Tage nachweisbar und verschwindet etwa 21 Tage nach Infektion (24).

1.2.2 Sekundäre Immunität

Personen nach durchgemachter Infektion bzw. nach Lebendimpfung zeigen im Vergleich zu Personen ohne vorherige Influenzaexposition sowohl in der Menge als auch in der Dauer eine Reduktion der Virusausscheidung. Die durch Gedächtnis-TH und -B-Zellen induzierte Antikörperantwort ist durch einen schnelleren Anstieg sowie einen höheren Peak charakterisiert. Die lokalen Antikörper der Schleimhaut sind durch die Neutralisation der Viren kurz nach Infektion primär für die Prävention einer manifesten Influenzainfektion im oberen Respirationstrakt verantwortlich. Die IgG-Antikörper des Serums dagegen übernehmen vor allem die Prävention einer letalen Influenza-Pneumonie.

Eine durch T-Gedächtnis-Zellen induzierte influenzaspezifische sekundäre CTL Antwort wurde bei reinfizierten Mäusen nachgewiesen. Diese tritt etwa zwei Tage früher und mit erhöhter Aktivität auf als die primäre CTL Antwort. Bei B-Zell-defizienten immunisierten Mäusen vermitteln spezifische T-Zellen Schutz und Restitution nach Reinfektion mit einer letalen Dosis an Influenza Viren. Die CTL Aktivität der T-Gedächtniszellen korreliert also mit der Resistenz gegenüber Influenza (107).

1.3 Erkrankung und Therapie

1.3.1 Symptome der akuten Influenzainfektion

Eine schnelle und verlässliche Diagnose einer Influenzainfektion ist essentiell für eine angemessene Behandlung der Patienten (18). Dazu werden meist mehrere Zeichen und Symptome herangezogen (87). In einer Studie von Boivin et al. zeigten Husten und Fieber in Kombination mit Symptombeginn innerhalb 48 Stunden einen positiven prädiktiven Wert von 79 Prozent, wobei Myalgien und Halsschmerzen den Wert nicht signifikant verbesserten. Während einer Epidemie erhobene Daten zeigen für die Symptome Husten und Fieber > 38°C einen positiven prädiktiven Wert von 86.8 Pro-

zent, die Spezifität liegt bei 55 Prozent (12). Die Wahrscheinlichkeit einer Infektion wird durch zusätzliche Symptome wie Frösteln oder allgemeines Unwohlsein noch erhöht (18). Zudem steigt die Wahrscheinlichkeit einer akkuraten Diagnose, wenn epidemiologische Daten den klinischen Verdacht erhärten (12). Kompliziert wird die klinische Diagnose durch die geringe Spezifität der klinischen Symptome. Ähnliche Symptome können durch viele andere respiratorische Viren verursacht werden (87). Zum Ausschluss einer Influenza dient am besten die Abwesenheit von Husten und systemischen Symptomen, sowie nicht bettlägerig zu sein und Alltagsaktivitäten nachgehen zu können (29). Bei stationären Patienten sind aufgrund der vorliegenden Grunderkrankung und Begleitmedikation oben genannte Kriterien zur Diagnose weniger gut geeignet (7). So können speziell bei immunsupprimierten Personen die typischen respiratorischen Symptome bzw. das Fieber zu Beginn sehr gering ausgeprägt sein bzw. sogar fehlen (83). Auch bei Influenzapandemien kann das Krankheitsbild von dem üblicher Influenzawellen abweichen (48).

1.3.2 Diagnostik

Zur Bestätigung der klinischen Diagnose stehen verschiedene diagnostische Methoden zur Verfügung. Als definitive Diagnose wird ein positives virales Kulturergebnis sowie eine positive Realtime-PCR aus klinisch erworbenem Material, oder ein mindestens vierfacher Anstieg neutralisierender Serumantikörper gegen das aktuelle Virus gewertet (112). An direkten Nachweismethoden stehen neben der direkten bzw. indirekten Immunfluoreszenz Enzym-Immunoassays und immunchromatographische Verfahren zur Verfügung. Sie erlauben einen schnellen Nachweis, variieren jedoch in ihrer Sensitivität zwischen 64 und 78 Prozent. Eine höhere Sensitivität, sowie die Möglichkeit der Unterscheidung von Subtypen bietet der Einsatz von Realtime-PCR. Zellkulturen mit anschließenden Hämadsorptions- bzw. Immunfluoreszenztests verfügen bei sehr hoher Sensitivität über den Nachteil einer sehr langen Nachweisdauer. Serologische Methoden wie Enzymimmunoassays, Hämagglutininhemmtests und Komplementfixation haben bei der Diagnose einer akuten Influenza nur geringe Bedeutung, erlauben jedoch die Bestimmung der Immunantwort nach Influenzaimpfung (117).

1.3.3 Verlauf und Komplikationen

Bei unkompliziertem Verlauf tritt die Entfieberung spätestens nach einer Woche ein, mit welcher auch alle anderen Symptome rasch verschwinden. Eine postgrippale Asthenie mit Mattigkeit und Antriebslosigkeit kann noch Wochen anhalten.

Häufige Komplikationen der Influenza sind Bronchitis, Pneumonie und Otitis media. Die Pneumonie tritt zum einen als interstitielle Viruspneumonie, ausgelöst durch besonders hohe Viruskonzentrationen, zum anderen als bakterielle Sekundärinfektion auf. Bakterielle Superinfektionen treten meist 2-3 Tage nach Beginn der Influenza auf. Sie können dabei den Verlauf deutlich verlängern, bzw. die Rekonvaleszenz verzögern. Bei den Superinfektionen spielen besonders Pneumokokken und *Haemophilus influenzae* eine Rolle, daneben werden Staphylokokken, Meningokokken und *Moraxella* gefunden. Bei Kindern ist die Otitis media eine wichtige Komplikation. Das erheblich seltenere Auftreten einer Otitis media bei geimpften gegenüber ungeimpften Kindern zeigt die Bedeutung der Influenza bei diesem Krankheitsbild.

In bis zu fünf Prozent der Infektionen kommt es zu einer kardialen Beteiligung in Form einer Peri- oder Myokarditis. Das klinische Bild reicht dabei von passageren und spontan abheilenden, linksthorakal stechenden Schmerzen mit vorübergehender unspezifischer Abgeschlagenheit bis in seltenen Fällen hin zur chronischen Myokarditis mit sekundärer dilatativer Kardiomyopathie (68).

1.3.4 Antivirale Medikamente

Oseltamivir, Zanamivir, sowie Amantadin und Rimantadin besitzen Aktivität gegen Influenzaviren. Oseltamivir und Zanamivir binden an die aktive Seite der Neuraminidase von Influenza-A- bzw. -B-Viren und hemmen ihre Aktivität (105). Amantadin hemmt die Funktion des M2 Protein und behindert die Replikation des Virus (58). Influenza B Viren besitzen anstatt des M2 das NB Protein, welches vom Amantadin nicht gehemmt wird (105).

Neuraminidasehemmer stehen mit Oseltamivir sowohl zur oralen, als auch mit Zanamivir zur inhalativen Applikation zur Verfügung. Beide reduzieren in therapeutischer Anwendung und Dosierung die Dauer von Fieber, Husten, Halsschmerzen und Myalgien um 1 bis 2,5 Tage. Dieser klinische Effekt ist koinzident mit

dem Abfall des Titors der Virusausscheidung. Sekundäre Effekte beinhalten die Reduzierung der Komplikationen um 50 – 70 Prozent (105). In der Postexpositionsprophylaxe zeigt Oseltamivir bei Haushaltskontakt eine Effektivität von 58 Prozent, bei Individualkontakt 68 Prozent. In prophylaktischer Anwendung erreicht Oseltamivir einen 54-prozentigen Schutz gegen symptomatische und asymptomatische Influenza, Zanamivir 43 Prozent (58).

Amantadin und Rimantidin verkürzen in therapeutischer Anwendung signifikant die Dauer des Fiebers. Sie haben jedoch keinen Einfluss auf die Persistenz der Influenza A Viren im oberen Respirationstrakt (58). Bis zu 33 Prozent der behandelten Personen sezernieren bis zum fünften Behandlungstag Amantadin-resistente Viren (105).

Während der inter pandemischen Phasen besteht die Indikation zur Behandlung mit antiviralen Medikamenten bei immunsupprimierten Personen und alten Menschen mit Influenza-ähnlicher Erkrankung, bei denen die Impfung keine ausreichende Immunität erzeugt, sowie bei nicht immunisierten Risikopatienten mit Influenza-ähnlicher Erkrankung während einer Epidemie (105).

Für den Fall einer Pandemie stehen antivirale Medikamente aus logistischen und finanziellen Gründen nur begrenzt zur Verfügung. Daher soll sich hierfür die Strategie am höchsten Nutzen für die Minderung von Morbidität und Mortalität sowie an der Aufrechterhaltung einer adäquaten Gesundheitsversorgung orientieren. So wird durch den nationalen Pandemieplan entsprechend einer Priorisierung zunächst eine Bevorratung für die Prophylaxe bei Beschäftigten im Gesundheitswesen und im Bereich der öffentlichen Sicherheit angestrebt. Nach aktuellen Daten zu Wirksamkeit, Nebenwirkungsprofil und Resistenzbildung wird zurzeit Neuraminidasehemmern der Vorzug gegeben (48).

1.4 Epidemiologie

1.4.1 Epidemie

Influenzainfektionen treten meist im Rahmen von Epidemien oder Pandemien auf. Epidemien definieren sich als geographisch und zeitlich begrenzt auftretende Infektionskrankheit. Influenzaepidemien werden meist durch Anhäufung von Punktmutationen im Bereich der antigenen Epitope in Form eines Antigendriffs ausgelöst und treten etwa alle zwei bis drei Jahre auf. Aus einem Antigendriff resultiert für die Viren die

Möglichkeit, bereits bestehende Immunität gegen die vorangehenden Viren in der Bevölkerung zu umgehen (52).

1.4.2 Pandemie

Voraussetzung für eine Pandemie ist das Auftreten eines viralen Subtyps, der bisher in der menschlichen Bevölkerung nicht zirkulierte, der in der Lage ist, schwere Erkrankungen hervorzurufen und sich effektiv von Mensch zu Mensch verbreitet (48). Pandemien können auf vier Wegen verursacht werden. Zum einen durch Antigen shift, wodurch das Gen für das HA durch Reassortment durch ein neues ersetzt wird, weiter durch einen sehr starken Antigendrift, wobei Mutationen von Aminosäuren die Epitope des HA so verändern, dass es zu keinen Kreuzreaktionen mit Antikörper gegen bereits zirkulierende Viren kommt, durch Wiedereinführung eines früheren Virus in eine Generation, welche gegenüber dem Virus nie exponiert war, sowie durch Einführung eines neuen Virus aus einer anderen Spezies in die menschliche Population (93).

1.4.3 Verteilung der Influenza in der Bevölkerung

Schätzungen zufolge waren während der Influenzasaison 2004/2005 in Deutschland etwa 20.000 zusätzliche Krankenhausbehandlungen erforderlich. Von 1996 bis 2006 verliefen jedes Jahr im Durchschnitt 8.000 bis 11.000 Erkrankungen tödlich (17). Während einer Pandemie muss mit 96.000 Todesfällen gerechnet werden (48). Ein erhöhtes Risiko für schwere Krankheitsverläufe besteht vor allem für ältere Menschen und Patienten mit Grunderkrankungen wie chronischen Lungen-, Herz-Kreislauf-, Leber- und Nierenerkrankungen, Diabetes mellitus und anderen Stoffwechselkrankheiten, sowie Immundefizienz (113).

Die höchste Morbidität ist bei Kindern zu verzeichnen. Sie erreichen jährliche Infektionsraten von bis zu 42 Prozent. Kinder sind zudem maßgeblich an der Ausbreitung der Influenza in den Familien und darüber hinaus in der Gesamtbevölkerung beteiligt. So kam es zwischen 1977 und 1987 in Japan durch Impfung aller Schulkinder zu einem deutlichen Rückgang der durch Pneumonie und Influenza verursachten Exzessmortalität in der älteren Bevölkerung (113). Aktuelle Studien zeigen, dass eine generelle Impfung von Kindern zu einem signifikanten Benefit für die gesamte Bevöl-

kerung führen würde (60). Die Rate an Influenza-assoziierten Krankenhauseinweisungen ist bei kleinen Kindern höher als bei älteren Personen (23). In der von uns untersuchten Saison 2003/2004 wurden in den USA 153 Influenza-assoziierte Todesfälle bei Kindern erfasst (10). Influenzainfektionen sind assoziiert mit akuter Otitis media, schweren Pneumokokken-Pneumonien, sowie mit einer erhöhten Inzidenz an Fieberkrämpfen (83). Des Weiteren führen sie zu einem Anstieg verordneter Antibiotika um bis zu 30 Prozent (95). Die American Academy of Pediatrics empfiehlt daher die Impfung von gesunden Kindern zwischen 6 und 24 Monaten (23). Eine entsprechende Immunisierung gesunder Kinder in Deutschland wird von der ständigen Impfkommision am Robert Koch-Institut bislang nicht empfohlen (30).

Im Alter bilden Influenzainfektionen eine zunehmende Ursache für Hospitalisationen und Todesfälle. Die meisten mit Influenza assoziierten Todesfälle gehen auf Menschen über 75 Jahre zurück (44). Immunisierte ältere Menschen zeigen im Vergleich zu nicht immunisierten eine etwa halb so hohe Inzidenz an serologisch nachgewiesenen Influenzainfektionen (69). Die Impfung von Menschen über 65 Jahre führt zu einer geringeren Rate an Influenza-bedingten Hospitalisationen, sowie zu weniger Fällen von Pneumonie und Herzversagen (84). Ein großer Effekt der Immunisierung liegt in der Verhinderung Influenza-assoziiierter Komplikationen (57).

Infektionen des oberen Respirationstrakt gehen vielen Myokardinfarkten voraus (76). Die Immunisierung gegen Influenza reduziert effektiv die Morbidität bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren sowie das Risiko für einen Myokardinfarkt in der darauf folgenden Influenza-Saison (73). Bei älteren Menschen führt die Immunisierung zu einer deutlichen Reduktion der Hospitalisierungen bei kardialen und cerebrovaskulären Erkrankungen, sowie zu einer insgesamt reduzierten Mortalität (85).

Bei immundefizienten Menschen verlaufen Influenzainfektionen meist schwerer und häufiger mit Komplikationen. So führt eine Infektion bei Personen nach Lebertransplantation in einer hohen Rate zu pulmonalen und extrapulmonalen Komplikationen, zu Dysfunktion des transplantierten Organs, sowie zu einer verlängerten Sekretion von Influenzaviren. Ein Drittel der Personen nach Organtransplantation entwickelt eine Pneumonie und 20 Prozent davon enden fatal. Eine jährliche Immunisierung vor Beginn der Influenza-Saison wird für alle Patienten nach Organtransplantation, deren Angehörige, sowie für deren Betreuer in medizinischen Einrichtungen empfohlen (99).

1.5 Prävention und Immunisierung

1.5.1 Indikation zur Immunisierung und Impfstoffe

Die Immunisierung stellt die wirksamste und kosteneffektivste präventive Maßnahme zur Bekämpfung der Influenza in allen Altersgruppen dar (113). Die Ständige Impfkommission am Robert Koch-Institut empfiehlt die Impfung zum einen für Personen über 60 Jahren, für Kinder, Jugendliche, schwangere Frauen und Erwachsene mit erhöhter gesundheitlicher Gefährdung, sowie für Bewohner von Alters- und Pflegeheimen, zum anderen für Personen, die als mögliche Infektionsquelle für von ihnen betreute ungeimpfte Risikopersonen fungieren können (98). Bei den derzeit verfügbaren Impfstoffen handelt es sich meist um trivalente Subunit-Impfstoffe, bestehend aus den Oberflächenproteinen HA und NA (56). Sie enthalten je 15 µg der aktuellen Influenza-A-Subtypen H1N1, H3N2 und des aktuellen Influenza-B-Subtyps (102). Zudem gibt es zugelassene Impfstoffe aus komplett inaktivierten Viren, bzw. Split-Impfstoffe, welche oberflächliche und interne Proteine enthalten. Die Immunisierung erfolgt bei Erwachsenen durch eine intramuskuläre Gabe, bei vorher nicht immunisierten Kindern durch zweifache intramuskuläre Gabe im Abstand von vier bis sechs Wochen (56). Eine weitere Möglichkeit bieten intranasal applizierbare kälte-attenuierte Lebendimpfstoffe (113). Im Vergleich zu parenteral verabreichten Impfstoffen induzieren sie bei etwas geringerer Antwort der Serumantikörper eine verstärkte Antwort sekretorischer IgA-Antikörper der lokalen Schleimhaut, sowie Zellvermittelte Immunität. (9). Empfehlungen für die Zusammensetzung des Impfstoffes basieren auf den Daten des global arbeitenden Surveillance-System der WHO (111).

1.5.2 Immunogenität

Antikörper gegen die Oberflächenproteine HA und NA korrelieren mit dem Schutz vor Infektion. Ein Hämagglutinin-Hemmtiter von $> 1:40$ im Serum bietet bei 50 Prozent der Bevölkerung ausreichenden Schutz (102). Der Antikörpertiter erreicht nach zwei bis drei Wochen einen Peak (66).

Die Immunogenität der Immunisierung hängt von der Immunkompetenz des Impflings ab. Sowohl inaktivierte als auch kälte-attenuierte Lebendimpfstoffe erreichen bei 87 Prozent der gesunden Erwachsenen und 80 Prozent der gesunden Kinder eine ausreichende Immunogenität (80).

Bei älteren Menschen ist die Immunogenität einer Immunisierung generell niedriger (110). Nach Immunisierung zeigen Menschen über 65 Jahre im Vergleich zu jüngeren Erwachsenen eine deutlich verringerte Antikörperantwort. Dabei ist sowohl die Rate an Serokonversionen, als auch die Rate an Seroprotektion geringer (44). Der Peak des Antikörpertiters liegt niedriger, zudem wird der Titer weniger lang beibehalten (45). Weiter wird im Alter eine verminderte Funktion verschiedener T-Zellen beobachtet (26).

Personen unter Immunsuppression sind allgemein nicht in der Lage, nach Immunisierung eine mit gesunden Patienten vergleichbare Immunantwort zu bilden (27). Immunsuppressive Medikamente interagieren dabei mit dem Immunsystem des Körpers auf verschiedene Weisen. Sie beeinflussen die für eine effektive Immunisierung wichtige Antwort der B-Zellen entweder direkt über ihr antiproliferatives Potential, oder über ihren Einfluss auf T-Helferzellen und deren Zytokine. Die primäre Immunisierung stimuliert sowohl B-Zellen als auch T-Helferzellen. CD4⁺-positive Helferzellen sorgen durch Produktion von IL-2, IL-4 und IL-5 für die Proliferation von B-Zellen. Eine wichtige Determinante für die Immunantwort ist dabei die Art der Immunsuppression bzw. der immunsuppressiven Therapie (99).

1.6 Hintergrund und Fragestellung

Über die Immunogenität der gegenwärtigen Influenzaimmunisierung bei immunsupprimierten Menschen insbesondere auf serologischer Ebene wird in der bislang publizierten Fachliteratur äußerst kontrovers diskutiert. Dabei zeigt sich bei den Studien eine ausgeprägte Heterogenität des Studiendesigns sowie des untersuchten Patientenguts. Viele Arbeiten untersuchen die Antikörperantwort nach Immunisierung bei einer jeweils sehr selektiven Patientengruppe mit zumeist einer bestimmten Grunderkrankung. Nicht wenige erreichen damit nur eine geringe Anzahl an untersuchten Probanden. Zum anderen resultiert daraus eine geringe Vergleichbarkeit der Immunogenität des Impfstoffes bei anderen Patienten mit ähnlicher Immunsuppression bei jedoch anderer Grunderkrankung.

In dieser Arbeit wird die Antikörperantwort nach Immunisierung mit dem aktuellen trivalenten Grippeimpfstoff der Saison 2003/2004 bei einer Gruppe immunsupprimierter Patienten im Vergleich zu immunkompetenten Kontrollpersonen untersucht. Die Gruppe der immunsupprimierten Personen wurde dabei sowohl bezüglich der

Grunderkrankungen als auch bezüglich der Immunsuppression sehr heterogen gestaltet. Neben Patienten mit medikamentöser Immunsuppression nach solider Organ- bzw. Stammzelltransplantation nahmen auch Personen mit krankheitsbedingter Immunsuppression bei bekannter HIV-Infektion, Patienten unter fortlaufender zytostatischer Therapie bei unterschiedlichen Malignomen sowie Patienten unter medikamentöser Immunsuppression bei rheumatologischen und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen teil.

Im Folgenden werden die Antikörperantworten der einzelnen Patientengruppen ausgewertet und untereinander sowie mit den Ergebnissen der immunkompetenten Kontrollpersonen verglichen und interpretiert. Des Weiteren sollen die Ergebnisse im Kontext bereits publizierter Studien eingeordnet und diskutiert werden.

2. Material und Methoden

2.1 Untersuchungskollektiv

2.1.1 Immunsupprimierte Probanden

Nach Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission beteiligten sich eine Reihe immunsupprimierter Probanden aus diversen Ambulanzen. Einschlusskriterien waren eine durch die individuelle Krankheit oder durch deren Therapie bedingte Immunsuppression sowie zum aktuellen Zeitpunkt der Immunisierung ein hinreichend guter Allgemeinzustand ohne bereits vorhandene Atemwegsinfektion. Bei Interesse wurden die Patienten über die Impfung und die Bedingungen der Studienteilnahme aufgeklärt. Nach schriftlicher Einwilligung in die Studienteilnahme wurde zusammen mit den Probanden eine standardisierte Anamnese erhoben.

2.1.2 Immunkompetente Probanden

Für die teilnehmenden immunkompetenten Probanden waren als Einschlusskriterien ebenso ein guter Allgemeinzustand ohne bereits vorhandene Atemwegsinfektion sowie ein uneingeschränkt kompetentes Immunsystem erforderlich.

2.2 Labordiagnostisches Material

2.2.1 Chemikalien

Waschlösungskonzentrat: Natriumchlorid Lösung mit Tween 20, 30 mM Tris	Virion/Serion
Verdünnungspuffer: Phosphatpuffer mit Tween 20	Virion/Serion
Stopplösung: 1,2 N Natrollauge	Virion/Serion
Substrat: Para-Nitrophenylphosphat	Virion/Serion
PBS-Verdünnungspuffer	Virotech
PBS-Waschlösung	Virotech
Teramethylbenzidin-Substratlösung	Virotech
Citrat-Stopplösung	Virotech

2.2.2 Antikörper und Antiseren

Standardserum: Humanserum in Phosphatpuffer	Virion/Serion
Kontrollserum negativ: Humanserum in Phosphatpuffer	Virion/Serion
Anti-Human-IgG-, IgA-Konjugat:	Virion/Serion
Gegen humanes IgG, IgA gerichteter, polyklonaler Ziegenantikörper, konjugiert mit alkalischer Phosphatase	
IgG- negative, cut-off und positive Kontrolle	Virotech
IgG-Konjugat	Virotech

2.2.3 Impfstoff und Antigen

MUTAGRIP® 2003/2004 Influenza-Impfstoff	Aventis Pasteur MSD
Hämagglutinin 190 µg/ml des Influenzastammes A/Moscow/10/99 (H3N2)	Aventis Pasteur MSD
Hämagglutinin 190 µg/ml des Influenzastammes A/New Caledonia/20/99 (H1N1)	Aventis Pasteur MSD
Hämagglutinin 190 µg/ml des Influenzastammes B/Hong Kong/330/2001	Aventis Pasteur MSD

2.2.4 Verbrauchsmaterial

50 ml Tubes	BD Falcon
15 ml Tubes	BD Falcon
Polystyren Einmalpipetten 5ml/10ml/25ml	Costar
Pipettenspitzen	Eppendorf
20 ml Spritzen	Braun
Serum Monovetten 7,5 ml	Sarstedt
Puderfreie Einmalhandschuhe	Hartmann
Reaktionsgefäße 1,5 ml	Eppendorf
Brechbare Mikrotiterstreifen mit je acht antigenbeschichteten Einzelkavitäten	Virion/Serion
Mikrotiterplatte, bestehend aus 96 mit Antigen Beschichteten, abbrechbaren Einzelkavitäten	Virotech

2.2.5 Geräte

Pipettierhelfer accu-jet	Brand
Einkanal Pipette	Eppendorf
Mehrkanal Pipette	Eppendorf
Zentrifuge Multifuge 3S-R	Heraeus
Kühlschrank 4°C	Liebherr
Wasserbad	Grant
Gefrierschrank -80°C	Liebherr
Sterilbank Hera safe	Heraeus

2.3 Methoden

2.3.1 Immunisierung

Zur Immunsierung wurde der Impfstoff MUTAGRIP® 2003/2004 verwendet. Eine Impfdosis (0,5 ml) enthielt je 15 µg Hämagglutinin der Stämme A/Moscow/10/99 (H3N2), A/New Caledonia/20/99 (H1N1), und B/Hong Kong/330/2001. Die Immunisierung erfolgte intramuskulär in den rechten bzw. linken Musculus deltoideus.

2.3.2 Blutentnahmen

Die erste Blutentnahme erfolgte im Rahmen von Besuchen der jeweiligen Ambulanzen am Tag der Impfung. Die zweite Blutentnahme erfolgte in einem Abstand von zwei bis sechs Wochen nach der Immunisierung, zumeist im Rahmen einer erneuten elektiven Vorstellung in der entsprechenden Ambulanz. Der durchschnittliche Abstand zwischen Immunisierung und zweiter Blutentnahme betrug bei den immunsupprimierten Patienten 33,7 Tage, bei den gesunden Kontrollpersonen 32,6 Tage. Die Serummonovetten wurden den Ambulanzen hierfür jeden Morgen bereitgestellt. Das tagsüber entnommene Blut wurde in den Blutentnahmestellen mit entsprechenden Patientenaufklebern gekennzeichnet und im Laufe des Nachmittags, spätestens nach fünf Stunden zur weiteren Verarbeitung in das infektiologische Labor transportiert.

2.3.3 Serumgewinnung

Das in die Serum-Monovetten gewonnene Blut wurde für zehn Minuten bei 2000 rpm und Raumtemperatur zentrifugiert, das Serum abpipettiert und in Kryo-tubes bei -80°C eingefroren.

2.3.4 Indirekter Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Bei der indirekten ELISA-Technik wird eine Festphase mit entsprechendem Antigen beschichtet. Die in der Patientenprobe vorliegenden spezifischen Antikörper binden an diese festphasenfixierten Antigene. Um die serologische Reaktion sichtbar zu machen, setzt man mit einem Enzym markierte Nachweisantikörper ein, die gegen die Immunglobuline der Patientenprobe gerichtet sind. Gibt man Substrat zu, kommt es durch die Enzym-Substrat-Reaktion zu einem Farbumschlag. Die Intensität des Farbumschlags wird photometrisch ermittelt, sie ist dem Gehalt an spezifischen Antikörpern proportional.

2.3.4.1 Elisa zur Bestimmung influenzaspezifischer Antikörper im Serum (Virotech)

Die Bestimmung der IgG-Antikörperantwort erfolgte mit zwei verschiedenen Testkits. Zum einen kam der Influenza A/B ELISA IgG/IgM Testkit zur Verwendung. Bei dem hier eingesetzten Antigen handelt es sich bei Influenza A um eine Mischung aus A/Panama/2007/99 (H3N2) und A/New Caledonia/20/99 (H1N1) und bei Influenza B um den Stamm B/Shangdong/7/97 (40). Aufgrund ihrer ähnlichen antigenen Struktur waren die genannten Stämme für Influenza A H3N2 und Influenza B gleichwertig neben den im von uns verwendeten Impfstoff enthaltenden Stämme A/Moscow/10/99 und B/Hong Kong/330/2001 von der WHO für die Saison 2003/2004 empfohlen worden (6). Nach Angaben des Herstellers verfügt dabei das verwendete ELISA Testkit über eine zum Hämagglutininhemmtest vergleichbare diagnostische Sensitivität und Spezifität. Als signifikant erhöhte Antikörperkonzentration, somit als Hinweis auf eine frische oder durchgemachte Infektion bzw. auf Impfantikörper wird vom Hersteller ein Titer von > 10 VE (Virotech-Einheiten) angegeben (40).

Nach Auftauen und entsprechender Verdünnung der Patientenseren mit Verdünnungspuffer wurden je 100 µl der verdünnten Patientenseren bzw. der Kontrollseren in die Kavitäten der Mikrotiterplatte pipettiert. Eine Kavität wurde für den Substratleerwert freigelassen. Nach 30 Minuten Inkubation bei 37°C wurden die Kavitäten viermal mit jeweils 400 µl Waschlösung gewaschen und anschließend 100 µl des entsprechenden Antikörper-Konjugates in die Kavitäten pipettiert. Nach 30 Minuten Konjugatinkubation bei 37°C wurden die Kavitäten erneut viermal mit je 400 µl Waschlösung gewaschen und hierauf 100 µl der Substratlösung in die Kavitäten pipettiert. Nach 30 Minuten Substratinkubation bei 37°C wurde die Reaktion mit je 50 µl Citrat-Stopplösung beendet und die Extinktion innerhalb der nächsten 60 Minuten gegen den Substratleerwert bei einer Wellenlänge von 450 nm ermittelt.

Zur Auswertung wurde aus den gewonnen IgG-Titer gegen Influenza A und Influenza B vor und nach der Immunisierung jeweils der arithmetische Mittelwert gebildet und die Standardabweichung errechnet. Die weitere Auswertung erfolgte nach mittlerem Titer vor und nach Immunisierung, mittlerem Titeranstieg, mittlerem Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Vergleich zur Gruppe der immunkompetenten Kontrollpersonen, sowie nach dem Anteil an Personen mit protektivem Titer nach Immunisierung. Als protektiver Titer wird im Folgenden eine entsprechend der ELISA-Herstellerangabe signifikant erhöhte Antikörperkonzentration von > 10 VE (Virotech Einheiten) nach Immunisierung betrachtet (40).

Zur Unterscheidung einer statistischen Signifikanz wurde der Student-t-Test verwendet. Irrtumswahrscheinlichkeiten von $p > 0,05$ wurden als nicht signifikant, von $p < 0,05$ als signifikant gewertet. Die Berechnung der statistischen Signifikanz mit dem Student-t-Test sowie die Berechnung der Konfidenzintervalle erfolgten unter Anwendung entsprechender Funktionen in Microsoft Office Excel 2007.

2.3.4.2 Elisa zur Bestimmung influenzaspezifischer Antikörper im Serum (Virion/Serion)

Als zweiter Test kam der Serion ELISA classic für Influenza A und B zur Verwendung. Das hier verwendete Antigen besteht hauptsächlich aus Kern- und Matrixprotein, damit kann aufgrund des unspezifischen Antigens bei Betrachtung der absoluten IgG-Titer nicht zwischen aktueller Serokonversion nach Immunisierung

und möglichen früheren Immunisierungen bzw. Infektionen unterschieden werden. Als protektive Titer werden im Folgenden entsprechend der ELISA-Herstellerangabe Antikörperkonzentration von > 15 U/ml nach Immunisierung betrachtet (41).

Nach Auftauen und entsprechender Verdünnung der Patientenseren mit Verdünnungspuffer wurden zunächst die antigenbeschichteten Mikroteststreifen in den Testrahmen eingesetzt und je $100\ \mu\text{l}$ der verdünnten Patientenseren bzw. der Kontroll- und Standardseren in die Kavitäten der Teststreifen pipettiert. Eine Kavität wurde für den Substratleerwert freigelassen. Nach 60 Minuten Inkubation bei 37°C wurden die Kavitäten viermal mit jeweils $300\ \mu\text{l}$ Waschlösung gewaschen und anschließend $100\ \mu\text{l}$ des entsprechenden Antikörper-Konjugates in die Kavitäten pipettiert. Nach 30 Minuten Konjugatinkubation bei 37°C wurden die Kavitäten erneut viermal mit je $300\ \mu\text{l}$ Waschlösung gewaschen und hierauf $100\ \mu\text{l}$ der Substratlösung in die Kavitäten pipettiert. Nach 30 Minuten Substratinkubation bei 37°C wurde die Reaktion mit je $100\ \mu\text{l}$ Stopplösung beendet und die Extinktion innerhalb der nächsten 60 Minuten gegen den Substratleerwert bei einer Wellenlänge von $405\ \text{nm}$ ermittelt.

Aus den gewonnen IgG-Titer gegen Influenza A und Influenza B vor und nach der Immunisierung wurden der arithmetische Mittelwert gebildet und die Standardabweichung errechnet. Die weitere Auswertung erfolgte wiederum nach mittlerem Titer vor und nach Immunisierung, mittlerem Titeranstieg, mittlerem Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Vergleich zur Gruppe der immunkompetenten Kontrollpersonen, sowie nach dem Anteil an Personen mit protektivem Titer nach Immunisierung. Als protektiver Titer wird im Folgenden eine entsprechend der ELISA-Herstellerangabe signifikant erhöhte Antikörperkonzentration von > 15 U/ml nach Immunisierung betrachtet (41).

Zur Unterscheidung einer statistischen Signifikanz wurde der Student-t-Test verwendet. Irrtumswahrscheinlichkeiten von $p > 0,05$ wurden als nicht signifikant, von $p < 0,05$ als signifikant gewertet. Die Berechnung der statistischen Signifikanz mit dem Student-t-Test sowie die Berechnung der Konfidenzintervalle erfolgten unter Anwendung entsprechender Funktionen in Microsoft Office Excel 2007.

3. Ergebnisse

3.1 Untersuchungskollektiv

3.1.1 Immunsupprimierte Probanden

Es beteiligten sich 76 Patienten aus den Ambulanzen der Hämatookologie, Nephrologie, gastroenterologischen Onkologie, Infektiologie und Rheumatologie. Im Rahmen bereits bestehender ambulanter Termine wurde den Patienten die Teilnahme an der Studie angeboten.

Die Gesamtanzahl und Zusammensetzung nach Alter und Geschlecht der teilnehmenden Patienten und Kontrollpersonen sowie deren Lymphozytenanzahl im peripheren Blut vor Immunisierung werden in den Abbildungen eins bis sechs dargestellt.

15 Patienten mit primärer oder adjuvanter Chemotherapie bei malignen Erkrankungen von Ösophagus, Jejunum, Colon und Rektum sowie Leber und Gallengänge beteiligten sich aus der Ambulanz für gastroenterologische Onkologie. Zehn der 14 Patienten (71 Prozent) erhielten sowohl innerhalb drei Monate vor Immunisierung als auch in der Zeit von zwei Wochen danach eine intravenöse zytostatische Therapie. Die anderen vier Patienten befanden sich unter oraler zytostatischer Therapie mit Capecitabin. Die durchschnittliche Lymphozytenzahl betrug am Tag der Immunisierung 1415/ μ l, im Rahmen der zweiten Blutentnahme 1100/ μ l.

Aus der gastroenterologischen Ambulanz beteiligten sich zwei Patienten mit Zustand nach allogener Lebertransplantation sowie drei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung. Die drei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung befanden sich unter immunsuppressiver Therapie mit Azathioprin. Die beiden Patienten nach allogener Lebertransplantation standen zum Zeitpunkt der Immunisierung unter Immunsuppression mit Sirolimus bzw. Tacrolimus.

Aus der nephrologischen Ambulanz beteiligten sich 24 Patienten mit Zustand nach allogener Nierentransplantation, sowie ein Patient mit protrahiertem nephrotischen Syndrom. Acht Patienten befanden sich unter ausschließlicher immunsuppressiver Therapie mit Calcineurininhibitoren, 14 Patienten unter Therapie mit einer Kombination aus Calcineurininhibitoren und Mycophenolat mofetil, drei Patienten unter The-

rapie mit der Kombination aus Sirolimus und Mycophenolat mofetil, sowie jeweils ein Patient unter Monotherapie mit Sirolimus und Mycophenolat mofetil.

Aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz beteiligten sich zwölf Patienten mit Zustand nach allogener Stammzelltransplantation sowie sieben Patienten mit primärer oder adjuvanter zytostatischer Therapie bei malignen Erkrankungen von Mamma und Hoden, bei Lymphomen und Leukämien.

Die Zeitspanne zwischen allogener Stammzelltransplantation und Immunisierung betrug zwischen vier und 65 Monaten, im Durchschnitt 21 Monate.

Von den zwölf Patienten nach allogener Stammzelltransplantation befanden sich vier unter immunsuppressiver Therapie mit einem Calcineurininhibitor, sechs unter Therapie mit einer Kombination von Calcineurininhibitor und Mycophenolat mofetil, zwei Patienten erhielten keine medikamentöse immunsuppressive Therapie.

Von den sieben Patienten unter zytostatischer Therapie (zwei Patienten mit Lymphom, ein Patient mit Leukämie, ein Patient mit malignem Hodentumor, zwei Patientinnen mit Mamma-Karzinom und ein Patient mit malignem Myoepitheliom) erhielten fünf (71 Prozent) sowohl innerhalb drei Monate vor Immunisierung als auch in der Zeit von zwei Wochen danach eine intravenös zytostatische Therapie. Die durchschnittliche Lymphozytenzahl betrug am Tag der Immunisierung 642/ μ l, im Rahmen der zweiten Blutentnahme 650/ μ l.

Aus der infektiologischen Ambulanz beteiligten sich fünf Patienten mit bekannter HIV-Infektion. Die CD4-Zellzahl befand sich zum Zeitpunkt der Immunisierung zwischen 213 und 672/ μ l, im Durchschnitt bei 458/ μ l. Alle Patienten befanden sich unter HAART (highly active antiretroviral therapy). Bei den zwei Patienten mit einer CD4-Zellzahl von mehr als 300/ μ l war die Viruslast zum Zeitpunkt der Immunisierung negativ, bei den Patienten mit niedriger CD4-Zellzahl lag die Viruslast bei 920 Kopien/ml, 88 Kopien/ml bzw. unterhalb der Nachweisgrenze.

Sieben Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen beteiligten sich aus der rheumatologischen Ambulanz, davon jeweils zwei Patienten mit rheumatoider Arthritis und Morbus Wegener, sowie jeweils ein Patient mit Dermatomyositis, Polymyalgia rheumatica und Psoriasisarthritis. Zum Zeitpunkt der Immunisierung standen sie unter Immunsuppression mit Methotrexat, Cyclophosphamid oder Etanercept, vielfach in Kombination mit einem Steroid.

3.1.2 Immunkompetente Probanden

Als immunkompetente Probanden beteiligten sich 40 Ärzte und Studenten der Universitätsklinik Regensburg sowie eine angehörige Person eines immunsupprimierten Patienten.

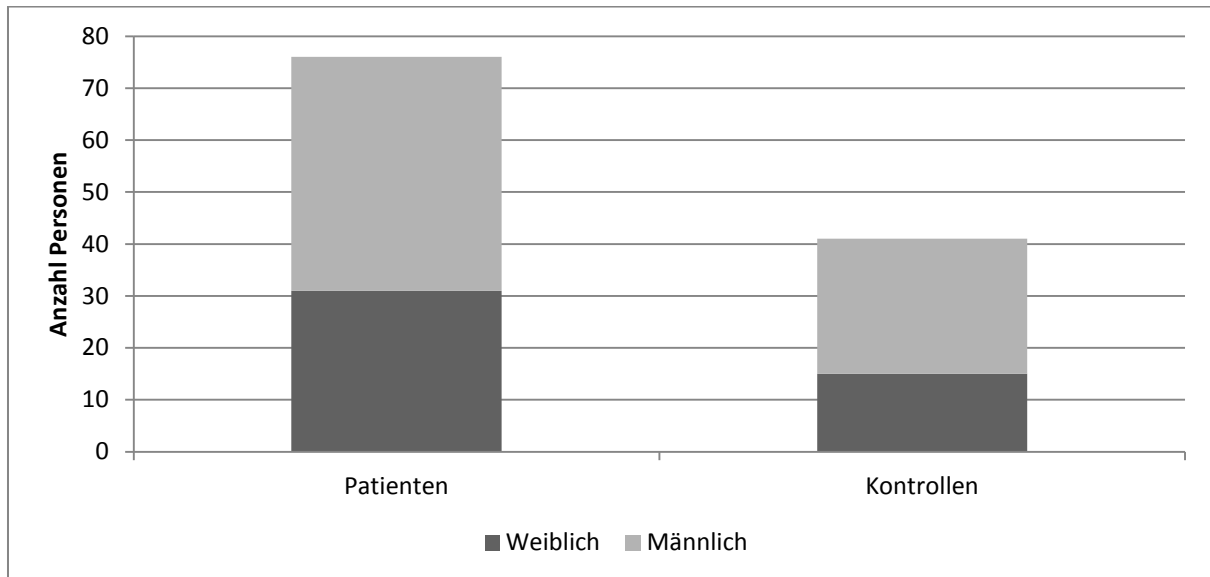


Abbildung 1: Anzahl und Geschlechterzusammensetzung der teilnehmenden Patienten und Kontrollpersonen

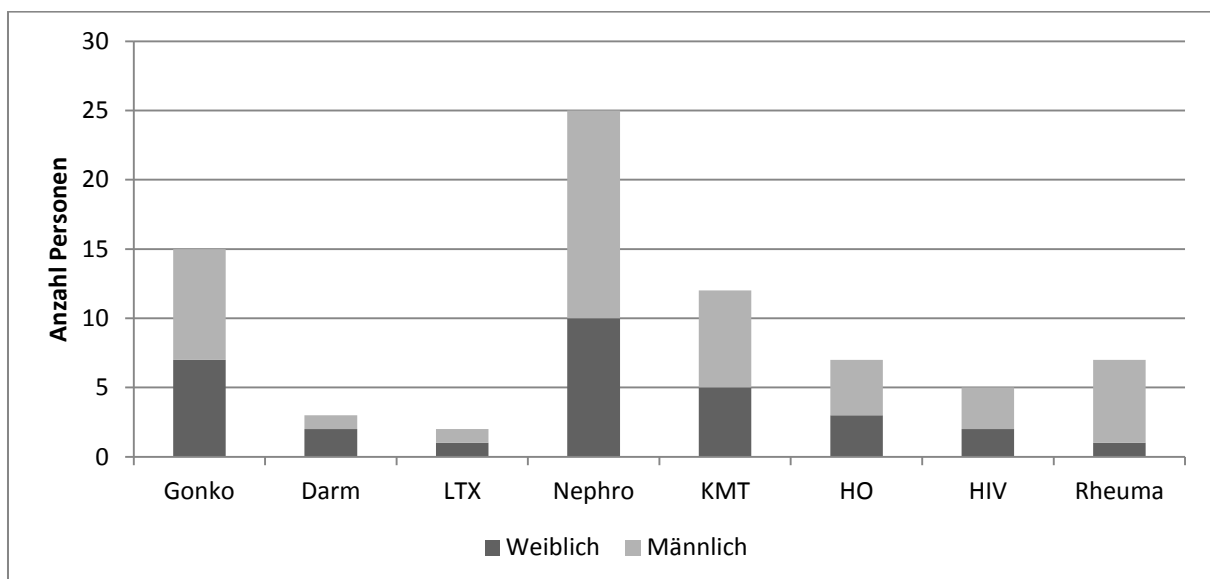


Abbildung 2: Anzahl und Geschlechterzusammensetzung der einzelnen Patientengruppen

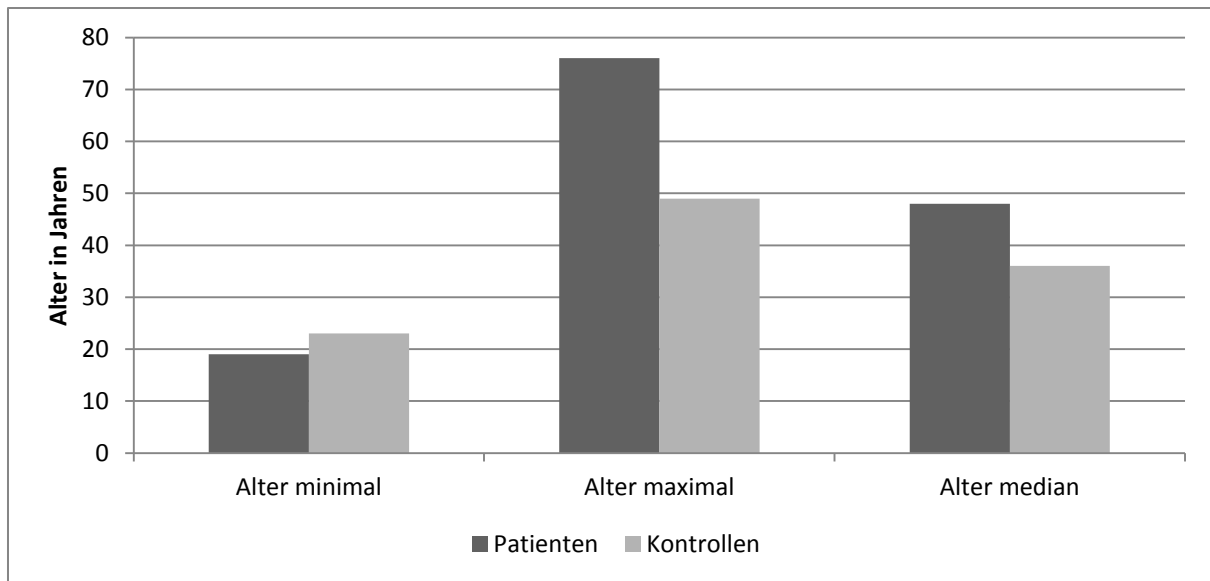


Abbildung 3: Alter der Patienten und Kontrollpersonen in Jahren

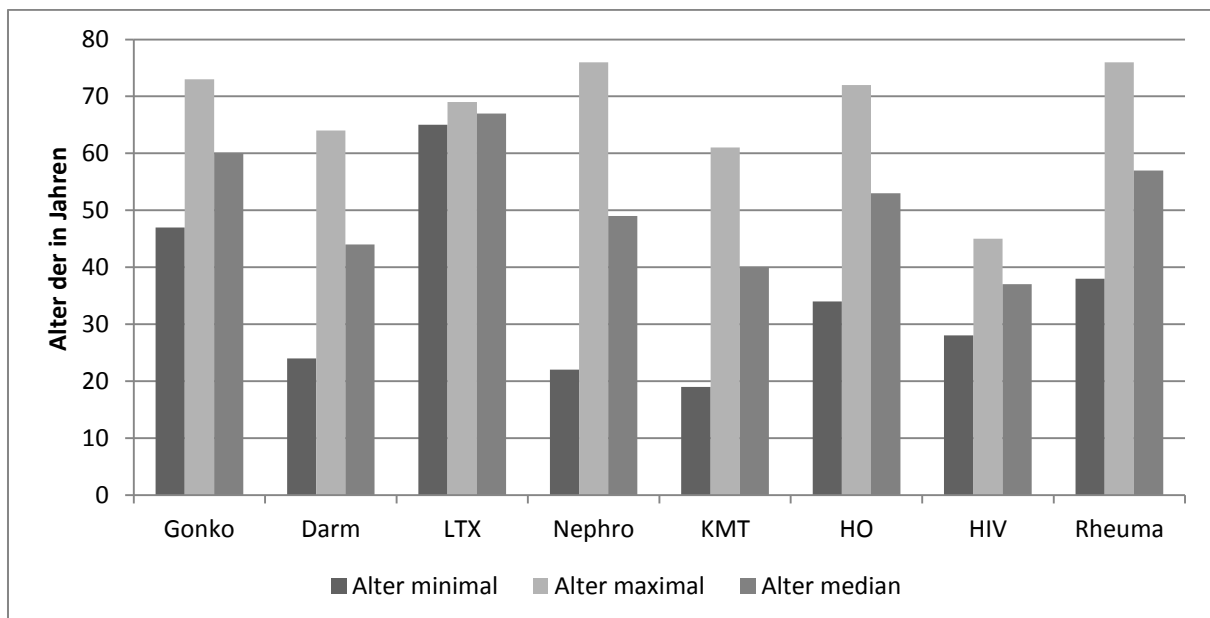


Abbildung 4: Alter der einzelnen Patientengruppen in Jahren

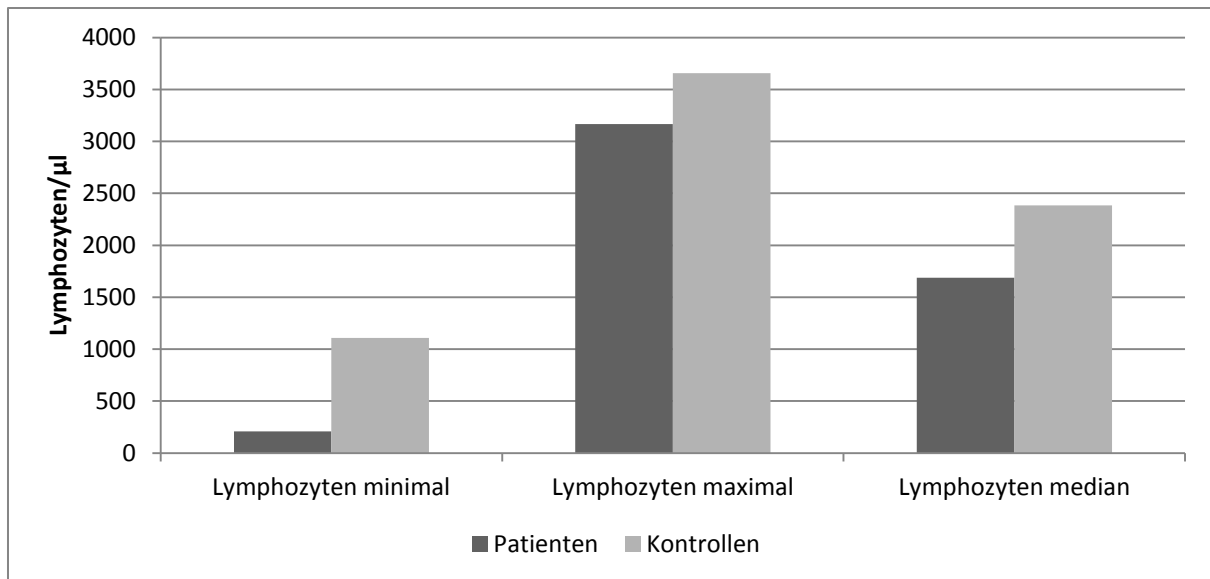


Abbildung 5: Lymphozytenzahl der Patienten und Kontrollpersonen vor Immunisierung im peripheren Blut

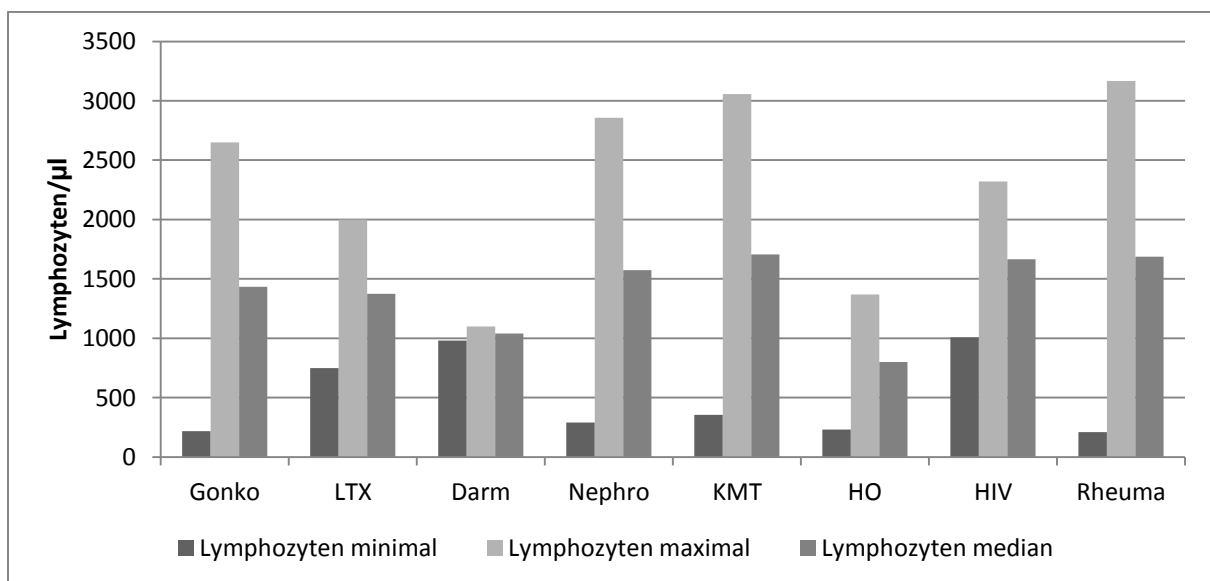


Abbildung 6: Lymphozytenzahl der einzelnen Patientengruppen vor Immunisierung im peripheren Blut

3.2 ELISA (Virotech)

3.2.1 Immunkompetente Probanden (Kontrolle)

Die Gruppe der 41 gesunden immunkompetenten Personen erreichte insgesamt einen signifikanten mittleren Titeranstieg um den Faktor 2 bei Influenza A, sowie einen signifikanten Anstieg um den Faktor 2,4 bei Influenza B. Sowohl bei Influenza A als auch bei Influenza B erreichten jeweils alle 41 Personen einen protektiven Titer nach Immunisierung (Abb. 1,2).

3.2.2 Patienten aus der gastroenterologischen Onkologie (Gonko)

Bei den 14 Patienten, welche sich zum Zeitpunkt der Immunisierung unter primärer oder adjuvanter Chemotherapie bei Tumoren des Gastrointestinaltrakts befanden, konnte bei Influenza A und B jeweils ein signifikanter mittlerer Titeranstieg gezeigt werden, bei Influenza A um den Faktor 2,4, bei Influenza B um den Faktor 2,1. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen konnte ein um 20 Prozent höherer Anstieg des mittleren Titers bei Influenza A, sowie ein um 12,5 Prozent verminderter Anstieg bei Influenza B beobachtet werden, wobei beide Unterschiede nicht signifikant sind. Einen protektiven Titer erreichten gegen Influenza A 100 Prozent, gegen Influenza B 66 Prozent der Patienten. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 1,2).

3.2.3 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung (Darm)

Die drei Patienten, welche sich unter immunsuppressiver Therapie mit Azathioprin befanden, erreichten gegen Influenza A und B einen signifikanten Titeranstieg, bei Influenza A um den Faktor 2,0, bei Influenza B um den Faktor 2,2. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen zeigten sie einen identischen Titeranstieg bei Influenza A, sowie einen um 8 Prozent nicht signifikant verminderten Anstieg bei Influenza B. Alle Patienten dieser Gruppe erreichten sowohl gegen Influenza A, als auch gegen Influenza B einen protektiven Titer (Abb. 1,2).

3.2.4 Patienten nach allogener Lebertransplantation (LTX)

Aus der Ambulanz für gastroenterologische Onkologie wurden zwei Patienten mit Zustand nach allogener Lebertransplantation in die Studie eingeschlossen. Nach der Impfung zeigten sie gegen Influenza A und B einen überdurchschnittlich guten und signifikanten Anstieg der influenzaspezifischen Antikörper, gegen Influenza A um den Faktor 4,9, gegen Influenza B um den Faktor 2,6. Gegen Influenza A erreichten beide, gegen Influenza B einer der Patienten einen protektiven Titer (Abb. 1,2).

3.2.5 Patienten nach allogener Nierentransplantation (Nephro)

Sowohl gegen Influenza A als auch gegen Influenza B erreichten diese Patienten einen signifikanten mittleren Titeranstieg jeweils um den Faktor 1,7. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen war der mittlere Titeranstieg bei Influenza A nicht signifikant um 15 Prozent, bei Influenza B signifikant um 30 Prozent vermindert. Einen protektiven Titer erreichten 92 Prozent gegen Influenza A und 73 Prozent gegen Influenza B. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 1,2).

3.2.6 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (KMT)

Gegen Influenza A sowie gegen Influenza B erreichten diese Patienten einen signifikanten mittleren Titeranstieg, gegen Influenza A um den Faktor 1,5, gegen Influenza B um den Faktor 1,8. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollepersonen konnte somit ein um 25 Prozent nicht signifikant verringerter Anstieg der influenzaspezifischen Antikörper sowohl gegen Influenza A, als auch gegen Influenza B beobachtet werden. Betrachtet man die absoluten Titer, so erreichten in dieser Gruppe 50 Prozent einen protektiven Titer gegen Influenza A und 25 Prozent gegen Influenza B. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza A und B (Abb. 1,2).

3.2.7 Patienten unter zytostatischer Therapie bei unterschiedlichen Malignomen (Onko)

Aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz erreichten die sieben Patienten, welche sich unter primärer oder adjuvanter Chemotherapie bei Tumoren von Mamma und Hoden bzw. bei Leukämie oder Lymphom befanden, einen signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza A um den Faktor 1,2, sowie einen nicht signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza B um den Faktor 1,6. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen konnte somit ein um 40 Prozent signifikant verringerter Anstieg des mittleren Titers bei Influenza A, sowie ein um 33 Prozent nicht signifikant verringerter Anstieg bei Influenza B gezeigt werden. Gegen Influenza A erreichten in diesem Kollektiv 71 Prozent, gegen Influenza B nur 43 Prozent der Patienten einen protektiven Titer. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 1,2).

3.2.8 Patienten mit nachgewiesener HIV-Infektion (HIV)

Die fünf Patienten aus der infektiologischen Ambulanz erreichten einen signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza A um den Faktor 1,7, gegen Influenza B einen nicht signifikanten mittleren Titeranstieg um den Faktor 1,7. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen war der mittlere Titeranstieg bei Influenza A um 15 Prozent, bei Influenza B um 30 Prozent jeweils nicht signifikant verringert. 40 Prozent der Patienten erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza A, 20 Prozent gegen Influenza B. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 1,2).

3.2.9 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen (Rheuma)

Aus der rheumatologischen Ambulanz beteiligten sich sieben Patienten mit verschiedenen Erkrankungen aus dem rheumatologischen Formenkreis. Sowohl gegen Influenza A als auch gegen Influenza B erreichten diese Patienten einen signifikanten mittleren Titeranstieg, gegen Influenza A um den Faktor 1,8, gegen Influenza B um

den Faktor 2,2. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen konnte bei Influenza A und B ein jeweils um rund zehn Prozent nicht signifikant verringerter mittlerer Titeranstieg beobachtet werden. Alle Patienten erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza A, 86 Prozent gegen Influenza B. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein nicht signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 1,2).

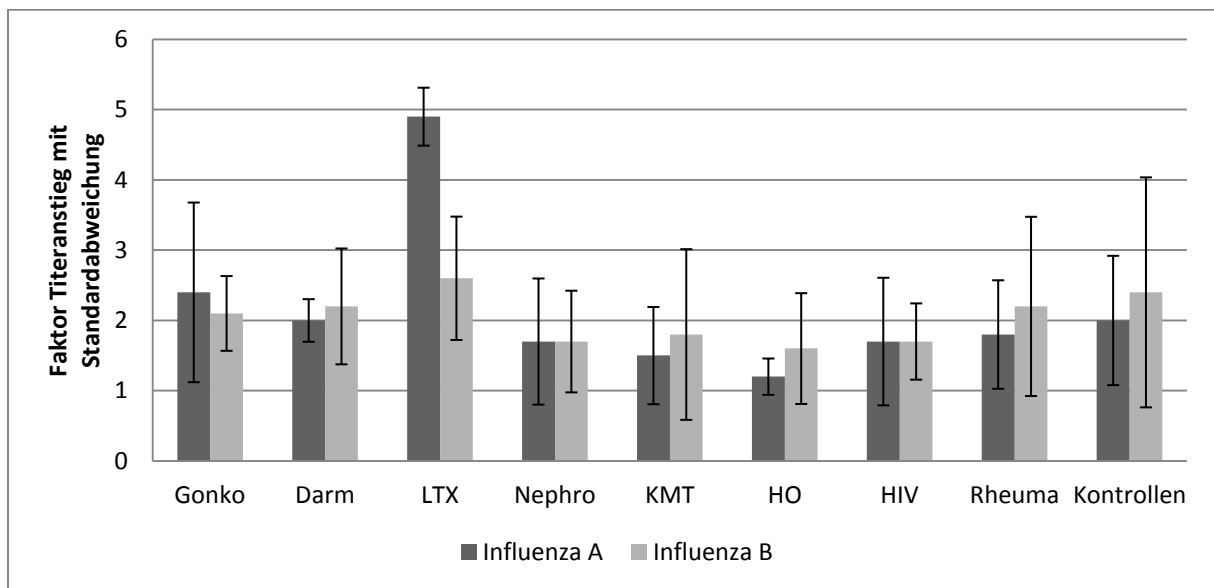


Abbildung 7: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virotech-ELISA

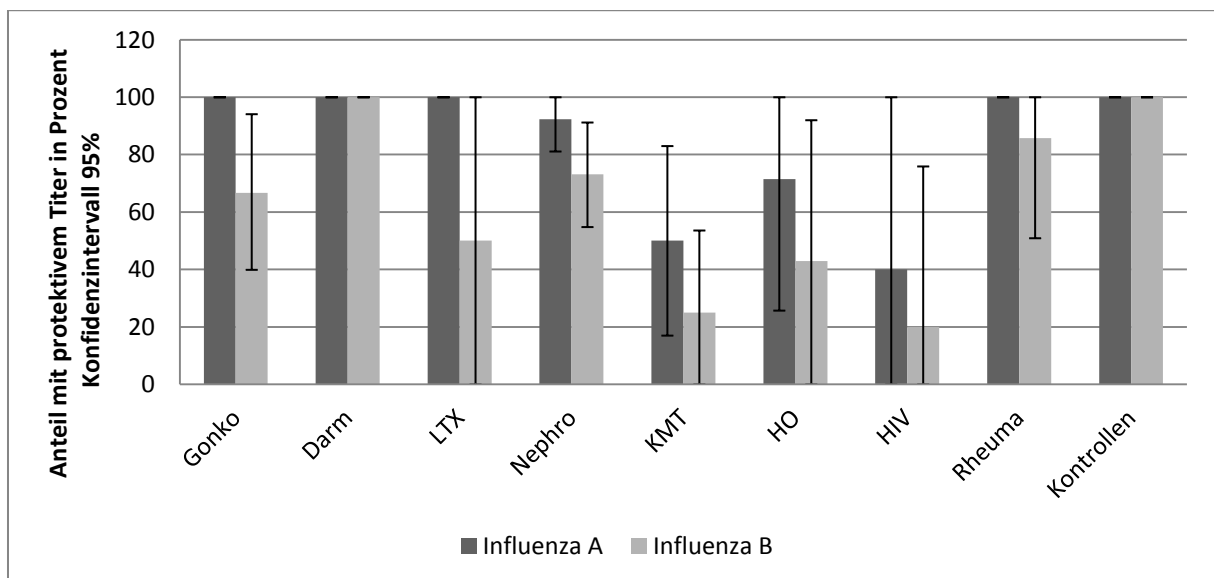


Abbildung 8: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA

3.2.10 Modifikationen

3.2.10.1 Zusammenfassung einzelner Patientengruppen

Ein unerwartet hoher mittlerer Titeranstieg zeigte sich bei den beiden Patienten nach allogener Lebertransplantation. Da hierbei mit großer Wahrscheinlichkeit von einem zufallsbedingten guten Immunisierungserfolg ausgegangen werden muss, werden die beiden Patienten aufgrund der vergleichbaren immunsuppressiven Therapie im folgenden der Gruppe der allogenen nierentransplantierten Patienten zugeordnet, welche nachfolgend als Gruppe der Patienten nach solider Organtransplantation (sTX) bezeichnet wird (Abb. 3,4).

Die Patienten dieser Gruppe zeigten gegen Influenza A und B einen signifikanten mittleren Titeranstieg, gegen Influenza A um den Faktor 1,9, gegen Influenza B um den Faktor 1,8. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen konnte ein um fünf Prozent nicht signifikant verringerter mittlerer Titeranstieg bei Influenza A, sowie ein um 25 Prozent nicht signifikant verringerter Titeranstieg bei Influenza B beobachtet werden. Einen protektiven Titer erreichten gegen Influenza A 93 Prozent, gegen Influenza B 71 Prozent der Patienten. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B.

Des Weiteren lassen sich die Patienten aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz zu einer übergeordneten Gruppe zusammenfassen. Diese Patienten erreichten gegen Influenza A und B einen signifikanten mittleren Titeranstieg, gegen Influenza A um den Faktor 1,4, gegen Influenza B um den Faktor 1,7. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen konnte ein um 30 Prozent signifikant verringerter mittlerer Titeranstieg bei Influenza A, sowie ein um rund 29 Prozent nicht signifikant verringerter Titeranstieg bei Influenza B beobachtet werden. Einen protektiven Titer erreichten gegen Influenza A 58 Prozent, gegen Influenza B 32 Prozent der Patienten. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer sowohl gegen Influenza A als auch gegen Influenza B (Abb. 3,4).

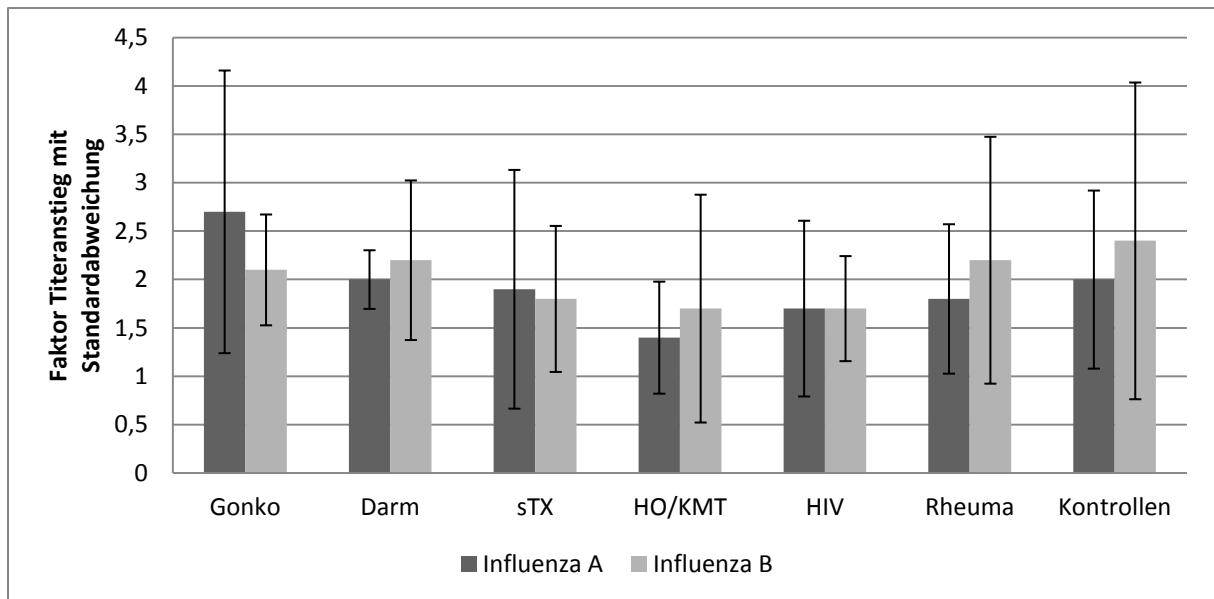


Abbildung 9: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virotech-ELISA

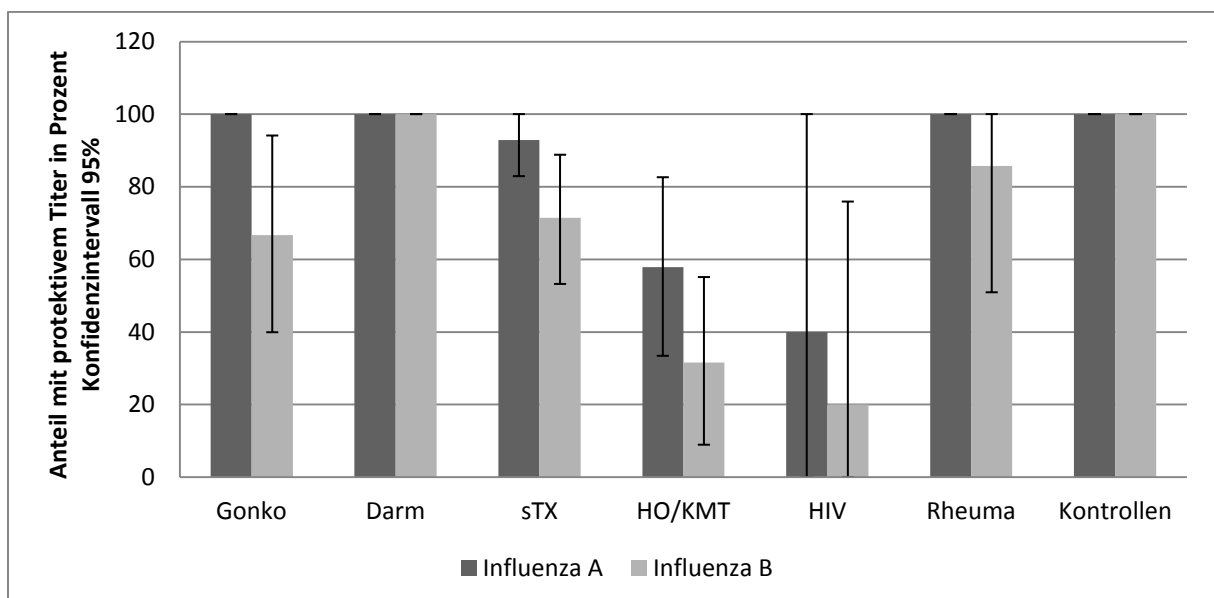


Abbildung 10: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA

Eine weitere übergeordnete Gruppe lässt sich bilden aus den Patienten nach solider Organtransplantation zusammen mit den Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (Abb. 5,6). 37 dieser insgesamt 39 Patienten standen unter immunsuppressiver Therapie mit Cylosporin A, Tacrolimus, Sirolimus, Everolimus, Mycophenolat mofetil bzw. mit einer Kombination aus den genannten Medikamenten. Betrachtet man dieses gesamte Kollektiv, so erreichten die Patienten gegen Influenza A und B einen signifikanten mittleren Titeranstieg jeweils um den Faktor 1,8.

Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen zeigte sich somit ein um zehn Prozent signifikant verringerter Titeranstieg gegen Influenza A, sowie ein um 25 Prozent nicht signifikant verringerter Anstieg bei Influenza B. Einen protektiven Titer erreichten gegen Influenza A 80 Prozent, gegen Influenza B 58 Prozent der Patienten. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer sowohl gegen Influenza A als auch gegen Influenza B.

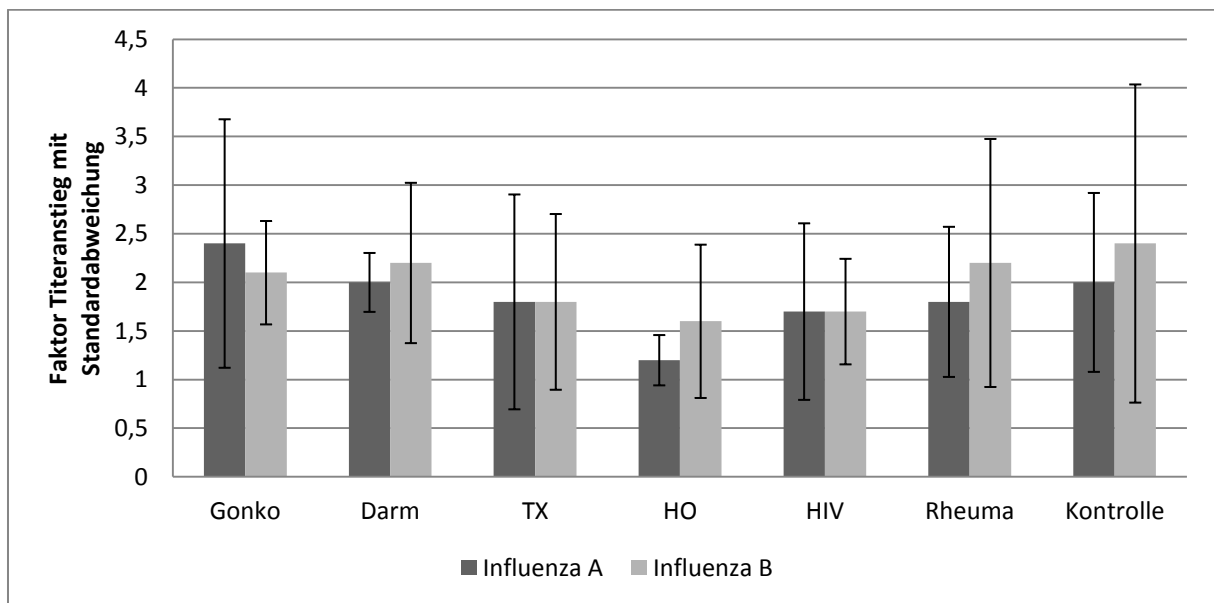


Abbildung 11: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virotech-ELISA

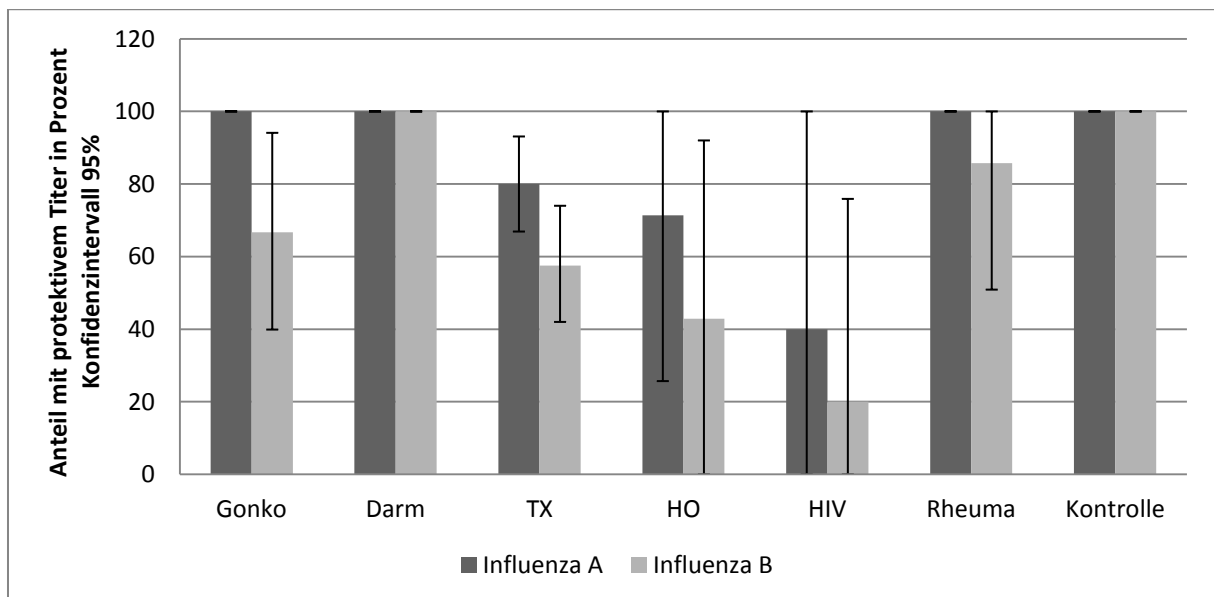


Abbildung 12: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA

3.2.10.2 Einfluss der immunsuppressiven Therapie mit Mycophenolat mofetil

Unter Zusammenfassung sämtlicher allogenen stammzell-, sowie nieren- und leber-transplantierten Patienten, welche unter immunsuppressiver Therapie mit den oben- genannten Medikamenten standen, zeigen sich in Bezug auf die Verwendung von Mycophenolat mofetil (MMF) Unterschiede in der Antikörperantwort. Sowohl der mittlere Titeranstieg als auch der Anteil an Personen mit protektivem Schutztiter nach Immunisierung war in der Gruppe der Patienten unter Therapie mit Mycophenolat mofetil im Virotech-ELISA geringer (Abb. 7,8). Ein signifikanter Unterschied konnte nicht gezeigt werden.

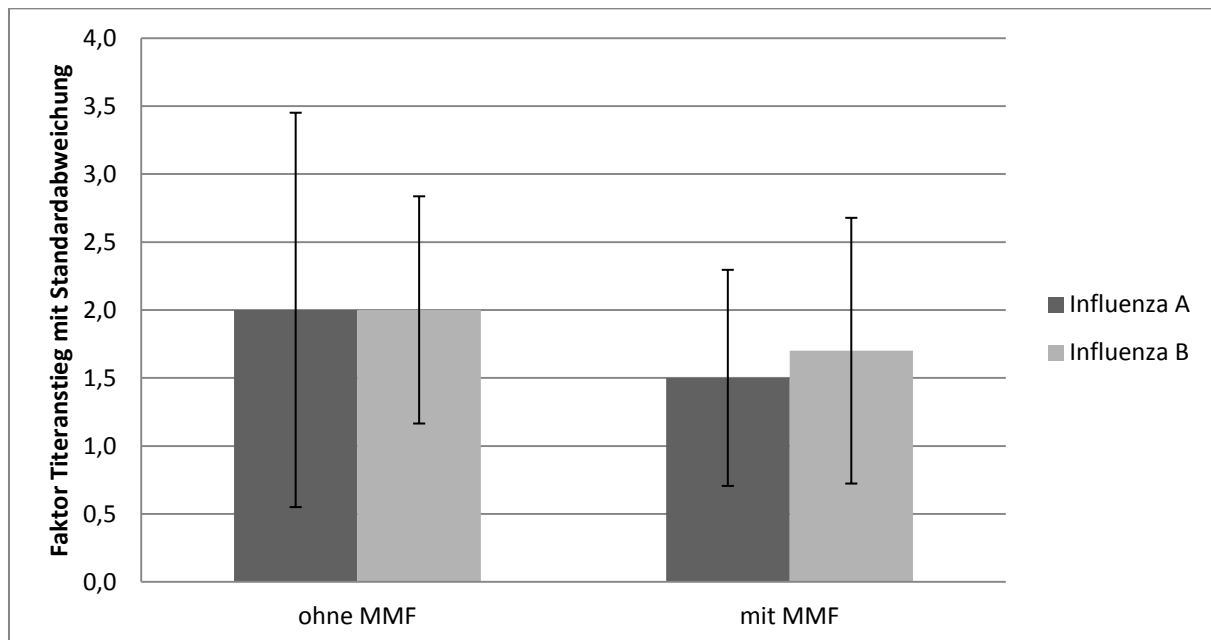


Abbildung 13: Mittlerer Titeranstieg unter bzw. ohne Behandlung mit Mycophenolat mofetil im Virotech-ELISA

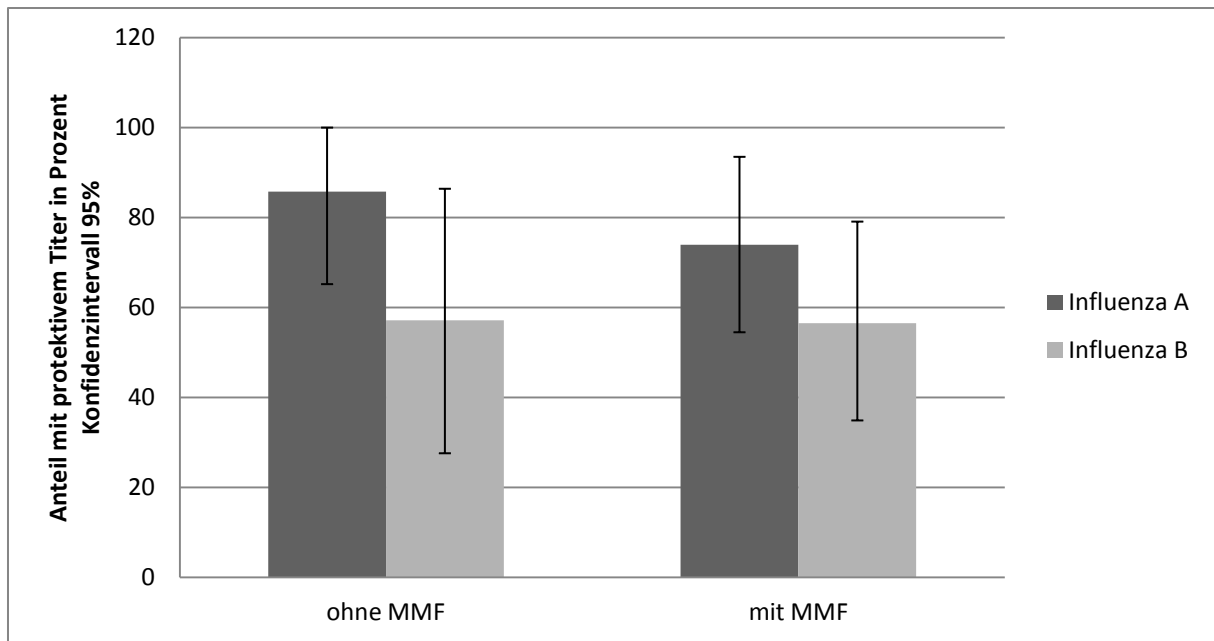


Abbildung 14: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA

3.2.10.3 Einfluss der absoluten Lymphozytenzahl bei den onkologischen Patienten

Vergleicht man die Patienten mit verschiedenen Malignomen aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz mit der Gruppe von Patienten mit soliden Tumoren des Gastrointestinaltrakts, so zeigen sich zum Zeitpunkt der Immunisierung sowie zur zweiten Blutentnahme Unterschiede in der nachweisbaren absoluten Lymphozytenzahl im peripheren Blut (Abb. 9: 1327/ μ l versus 727/ μ l vor Immunisierung, 1122/ μ l versus 1000/ μ l nach Immunisierung). Korrelierend dazu kann für die Patienten aus hämatologisch-onkologischen Ambulanz in beiden ELISA eine geringere Antikörperantwort beobachtet werden, im Virotech-ELISA ein signifikant geringerer mittlerer Titeranstieg gegen Influenza A sowie ein nicht signifikant geringerer Anstieg gegen Influenza B. Gegen Influenza A und B erreicht ein jeweils nicht signifikant geringerer Anteil an Patienten einen protektiven Titer nach Immunisierung (Abb. 5/6). Im Virion/Serion-ELISA konnten weder beim mittleren Titeranstieg noch im Erreichen eines protektiven Titers signifikante Unterschiede gezeigt werden (Abb. 12/13).

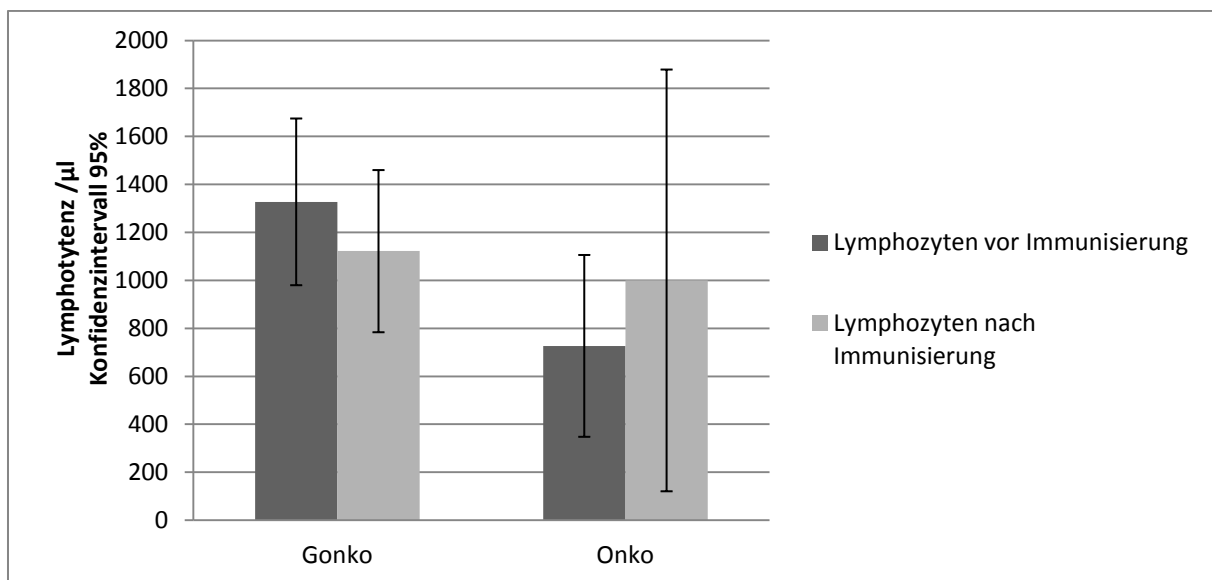


Abbildung 15: Absolute Lymphozytenzahl der Patienten mit soliden Tumoren des Gastrointestinaltrakts sowie der Patienten mit verschiedenen Malignomen aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz vor und nach Immunisierung

3.2.10.4 Einfluss der CD4-Zellzahl bei HIV-positiven Patienten

Bei den fünf HIV-positiven Patienten befand sich die CD4-Zellzahl zum Zeitpunkt der Immunisierung zwischen 213 und 672/ μ l, im Durchschnitt bei 458/ μ l. Nach Aufteilung der fünf Patienten in zwei Gruppen mit mehr bzw. weniger als 300 CD4-positive Zellen bei Immunisierung zeigte sich bei den beiden Patienten mit einer CD4-Zellzahl von mehr als 300 Zellen/ μ l ein im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen nur ein um 15 Prozent nicht signifikant verminderter mittlerer Titeranstieg bei Influenza B, und sogar ein um 17 Prozent nicht signifikant höherer mittlerer Titeranstieg bei Influenza A. Beide Patienten erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza A, einer gegen Influenza B. In der Gruppe der drei Patienten mit einer CD4-Zellzahl von weniger als 300/ μ l zeigt sich der mittlere Titeranstieg gegenüber den gesunden Kontrollpersonen bei Influenza A signifikant um 38 Prozent, bei Influenza B nicht signifikant um 41 Prozent vermindert. Keiner dieser Patienten erreichte einen protektiven Titer (Abb. 9).

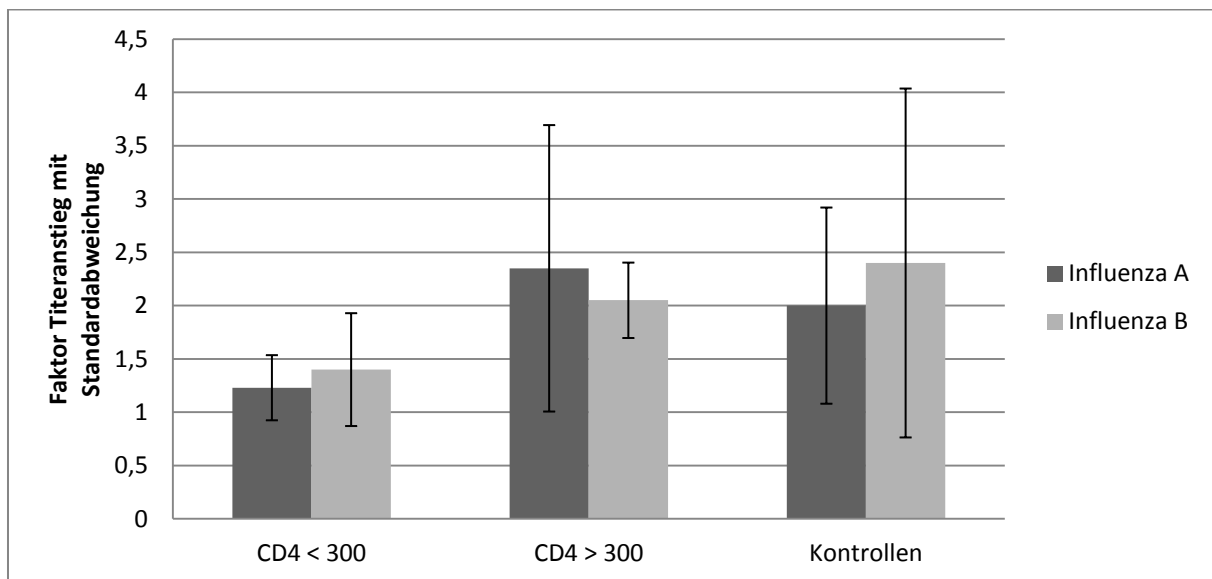


Abbildung 16: Mittlerer Titeranstieg nach CD4-Zellzahl im Virotech-ELISA

3.2.10.5 Einfluss der immunsuppressiven Therapie bei rheumatologischen Patienten

Differenziert man in der Gruppe der Patienten aus der rheumatologischen Ambulanz nach der immunsuppressiven Medikation, so zeigen die Patienten unter Methotrexat gegenüber den gesunden Kontrollpersonen einen nicht signifikant höheren mittleren Titeranstieg, bei den Patienten unter Cyclophosphamid zeigt sich der mittlere Titeranstieg im Vergleich nicht signifikant um fünf Prozent bei Influenza A, sowie nicht signifikant um 25 Prozent bei Influenza B verringert. Am deutlichsten vermindert zeigt sich der Titeranstieg bei dem Patient, welcher sich als einziger unter Therapie mit einem TNF-alpha Antagonisten befand. Dieser erreichte auch als einziger keinen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 10).

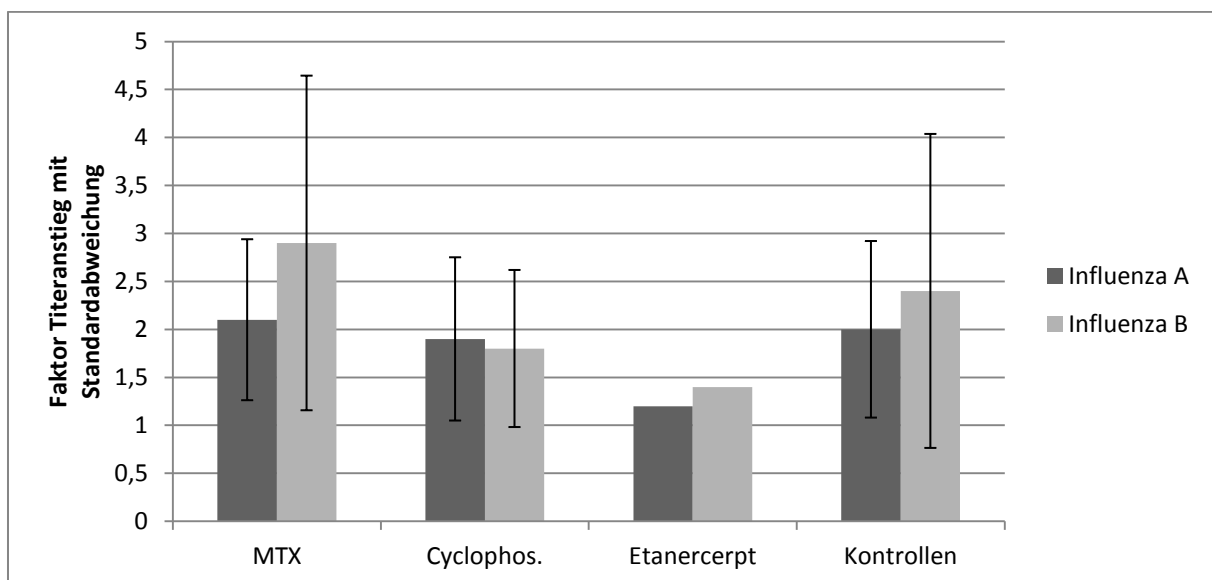


Abbildung 17: Mittlerer Titeranstieg nach Immunsuppression im Virotech-ELISA

3.3 ELISA (Virion/Serion)

3.3.1 Immunkompetente Probanden (Kontrolle)

Die 41 gesunden immunkompetenten Probanden erreichten einen signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza A und B, um den Faktor 4,8 bei Influenza A, um den Faktor 3,0 bei Influenza B. 53 Prozent erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza A, 61 Prozent gegen Influenza B (Abb. 11,12).

3.3.2 Patienten aus der gastroenterologischen Onkologie (Gonko)

Die Patienten dieser Gruppe erreichten einen signifikanten Titeranstieg gegen Influenza A und B, um den Faktor 4,0 bei Influenza A, um den Faktor 2,6 bei Influenza B. Gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen konnte ein um 17 Prozent nicht signifikant verringerter mittlerer Titeranstieg bei Influenza A, sowie ein um elf Prozent nicht signifikant verringerter Anstieg bei Influenza B beobachtet werden. 33 Prozent der Patienten erreichten bei Influenza A, rund 26 Prozent bei Influenza B einen protektiven Titer nach Immunisierung. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza B (Abb. 11,12).

3.3.3 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung (Darm)

Diese Patienten erreichten weder gegen Influenza A noch gegen Influenza B einen signifikanten Titeranstieg. So konnte gegen Influenza A ein mittlerer Titeranstieg um den Faktor 2,8, gegen Influenza B um den Faktor 1,6 gezeigt werden. Gegenüber den gesunden Kontrollpersonen war der mittlere Titeranstieg bei Influenza A nicht signifikant um 41 Prozent, bei Influenza B signifikant um 47 Prozent verringert. Keiner der Patienten erreichte einen protektiven Titer gegen Influenza A, zwei der drei Patienten erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza B. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza A (Abb. 11,12).

3.3.4 Patienten nach solider Organtransplantation (sTX)

Auch in diesem ELISA zeigten die beiden Patienten mit Zustand nach allogener Lebertransplantation einen außerordentlich hohen Titeranstieg, sodass diese zur Vermeidung möglicher zufälliger Fehler mit den Patienten nach allogener Nierentransplantation in eine Gruppe von Patienten nach solider Organtransplantation (sTX) zusammengefasst wurden. Diese Patienten erreichten gegen Influenza A und B einen signifikanten mittleren Titeranstieg, um den Faktor 3,2 gegen Influenza A, um den Faktor 2,2 gegen Influenza B. Gegenüber den gesunden Kontrollpersonen konnte ein um 32 Prozent nicht signifikant verringerter mittlerer Titeranstieg gegen Influenza A, sowie ein um 27 Prozent nicht signifikant verringerter Anstieg gegen Influenza B beobachtet werden. Ein Drittel der Patienten erreichte einen protektiven Titer gegen Influenza A, 41 Prozent gegen Influenza B. Somit war der jeweilige Anteil mit protektivem Schutztiter im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen nicht signifikant vermindert (Abb. 11,12).

3.3.5 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (KMT)

Die zwölf Patienten erreichten einen nicht signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza A und B, um den Faktor 2,2 bei Influenza A, um den Faktor 2,7 bei Influenza B. Gegenüber den immunkompetenten Probanden zeigte sich der mittlere Titeranstieg bei Influenza A signifikant um 54 Prozent, bei Influenza B nicht signifikant um neun Prozent verringert. Nur acht Prozent erreichten nach Immunisierung einen protektiven Titer gegen Influenza A, 25 Prozent gegen Influenza B. Somit erreichte gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen ein signifikant geringerer Anteil dieser Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza A und B (Abb. 11/12).

3.3.6 Patienten unter zytostatischer Therapie bei unterschiedlichen Malignomen (Onko)

Die Patienten dieser Gruppe erreichten einen nicht signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza A sowie einen signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza B. Gegenüber den gesunden Probanden konnte ein um 55 Prozent signifi-

kant verringerter mittlerer Titeranstieg bei Influenza A, sowie ein um 26 Prozent nicht signifikant verringerter Anstieg bei Influenza B beobachtet werden. 29 Prozent der Patienten erreichten nach Immunisierung einen protektiven Titer gegen Influenza A, 43 Prozent gegen Influenza B. Der jeweilige Anteil mit protektivem Schutztiter war im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen nicht signifikant vermindert (Abb. 11,12).

3.3.7 Patienten mit nachgewiesener HIV-Infektion (HIV)

Diese fünf Patienten erreichten weder gegen Influenza A noch gegen Influenza B einen signifikanten mittleren Titeranstieg. So konnte gegen Influenza A ein mittlerer Titeranstieg um den Faktor 2,4, gegen Influenza B um den Faktor 2,3 beobachtet werden. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen zeigte sich der mittlere Titeranstieg bei Influenza A signifikant um 50 Prozent, bei Influenza B nicht signifikant um 21 Prozent verringert. Jeweils nur einer der fünf Patienten erreichte einen protektiven Titer gegen Influenza A und B. Der jeweilige Anteil mit protektivem Schutztiter war im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen nicht signifikant vermindert (Abb. 11,12).

3.3.8 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen (Rheuma)

Diese sieben Patienten erreichten weder gegen Influenza A noch gegen Influenza B einen signifikanten mittleren Titeranstieg. So konnte gegen Influenza A ein mittlerer Titeranstieg um den Faktor 5,5, gegen Influenza B um den Faktor 3,8 beobachtet werden. Im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen zeigte sich bei diesen Patienten ein um 16 Prozent nicht signifikant höherer mittlerer Titeranstieg gegen Influenza A sowie ein um 27 Prozent nicht signifikant höherer Anstieg gegen Influenza B. 71 Prozent der Patienten erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza A, 57 Prozent gegen Influenza B. Der jeweilige Anteil mit protektivem Schutztiter war im Vergleich zu den immunkompetenten Kontrollpersonen nicht signifikant unterschiedlich (Abb. 11,12).

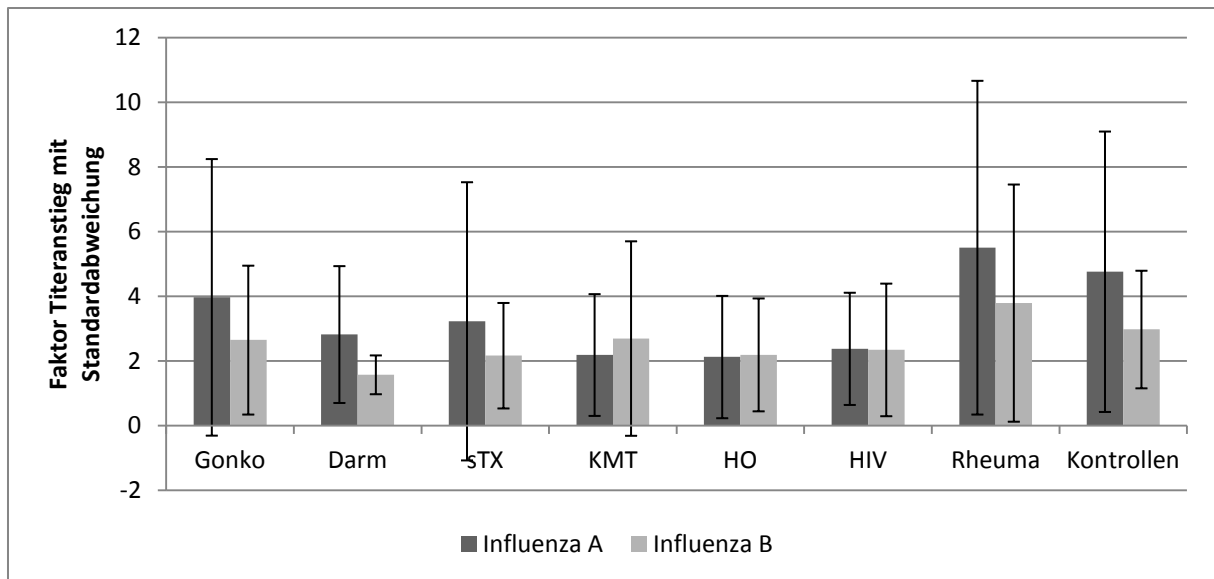


Abbildung 18: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virion/Serion-ELISA

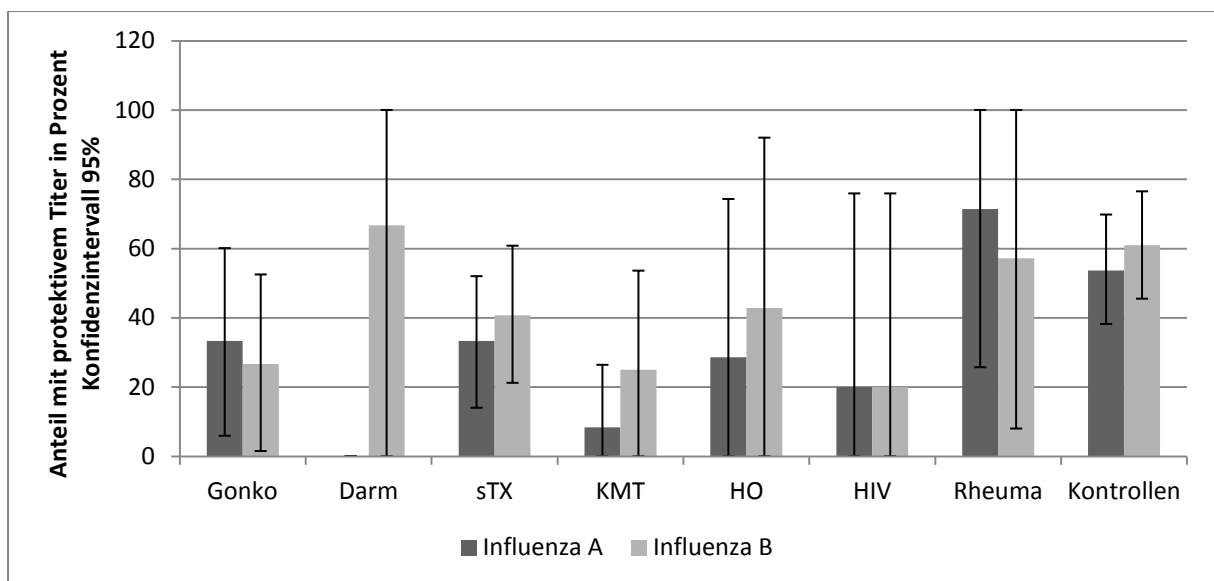


Abbildung 19: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virion/Serion-ELISA

3.4 Vorbestehende protektive influenzaspezifische IgG-Titer

3.4.1 Anteil an Personen mit vorbestehendem protektiven Titer in den einzelnen Patientengruppen

Bei Betrachtung der influenzaspezifischen Antikörpertiter im Virotech-ELISA fällt auf, dass ein beträchtlicher Teil der teilnehmenden Personen, sowohl der immunsupprimierten Patienten als auch der gesunden Kontrollpersonen, schon vor der Immunisierung über einen protektiven Titer verfügt. Von den gesunden Kontrollpersonen weisen 80,5 Prozent gegen Influenza A und 56 Prozent gegen Influenza B bereits vor Impfung einen protektiven Titer auf. Bei den Patienten zeigte sich insgesamt bei 60,5 Prozent gegen Influenza A und bei 25 Prozent gegen Influenza B vor Impfung ein protektiver Titer.

Der Anteil an Patienten mit protektivem Titer vor Immunisierung schwankt dabei in den einzelnen Patientengruppen (Abb. 13). Während protektive Titer in den Gruppen der Rheumapatienten und nierentransplantierten Patienten gegen Influenza A bei über 80 Prozent nachgewiesen werden konnten, waren es bei den knochenmarkstransplantierten sowie den HIV-positiven Patienten nur rund 33 bzw. 20 Prozent. Bei einer insgesamt niedrigeren Rate an Patienten mit protektiven Titer vor Immunisierung gegen Influenza B schwankten die Anteile in den einzelnen Gruppen zwischen rund sechs Prozent bei den Patienten aus der Ambulanz für gastroenterologische Onkologie und rund 65 Prozent bei den Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.

Die Tatsache, dass gegen die Stämme Influenza A/New Caledonia/20/99 (H1N1) und Influenza A/Moscow/10/99 (H3N2) bereits in den Jahren 2000, 2001 und 2002, sowie der Stamm Influenza B/Hong Kong/330/2001 im Jahr 2002 auf Empfehlung der WHO immunisiert wurde, könnte die hohen Titer vor unserer Immunisierung durchaus erklären. Analysiert man dazu die Angaben der Patienten zu früheren Influenzaimmunisierungen in den Studiendokumentationsbögen, erhält man folgende Ergebnisse.

In der größte Patientengruppe, der Gruppe der nierentransplantierten Personen, gaben elf von 25 Personen (48 Prozent) an, im Vorjahr und bzw. oder im Jahr 2001 gegen Influenza immunisiert worden zu sein. In dieser Gruppe zeigt sich vor der Impfung ein mittlerer Titer von 20,8 gegen Influenza A und 11,2 gegen Influenza B. Erwartungsgemäß verfügen von diesen Personen über 90 Prozent über einen protektiven Titer gegen Influenza A und über 45 Prozent gegen Influenza B. Betrachtet man

jedoch die Patienten, welche nach eigenen Angaben noch nie eine Grippeimpfung erhalten hat, so zeigt sich in dieser Gruppe vor der Impfung ein mittlerer Titer von 14,6 gegen Influenza A und 9,2 gegen Influenza B. Auch in dieser Gruppe verfügen über 81 Prozent bereits vor der Immunisierung über einen protektiven Titer gegen Influenza A und über 41 Prozent gegen Influenza B. Von den beiden Patienten, welche zuletzt vor zehn Jahren bzw. zu einem unbekannten Zeitpunkt immunisiert worden waren, zeigte sich ein deutlich niedrigerer mittlerer Titer vor Impfung, auch verfügten beide nicht über einen protektiven Titer gegen die zu impfenden Influenzastämme.

In der zweitgrößten Patientengruppe aus der Ambulanz für gastroenterologische Onkologie gaben nur zwei von 16 Patienten an, im Vorjahr gegen Influenza geimpft worden zu sein. Zusammen erreichten sie vor der aktuellen Impfung einen mittleren Titer von 13,1 gegen Influenza A und 6,1 gegen Influenza B. Beide verfügten über einen protektiven Titer gegen den aktuellen Influenza A-Stamm, nicht aber gegen Influenza B. Sechs Patienten (37,5 Prozent) gaben an, noch nie gegen Influenza immunisiert worden zu sein. Jedoch erreichten diese vor der Impfung einen mittleren Titer von 11,6 gegen Influenza A und 6,3 gegen Influenza B. 50 Prozent verfügten bereits vor der Impfung über einen protektiven Titer gegen Influenza A, keiner gegen Influenza B. Die fünf vorimmunisierten Patienten mit unklarerem Zeitpunkt der letzten Impfung zeigten vor Impfung einen mittleren Titer von 10,1 gegen Influenza A und 5,1 gegen Influenza B. 60 Prozent verfügten über einen protektiven Titer gegen Influenza A, 20 Prozent gegen Influenza B. Lediglich die drei Patienten mit der letzten Impfung vor mehr als drei Jahren zeigten insbesondere bei Influenza A einen deutlich niedrigeren mittleren Titer vor Immunisierung. Auch verfügte keiner dieser Gruppe über einen protektiven Titer gegen die aktuellen Virusstämme.

Ein anderes Bild bietet sich in der Gruppe der allogenen stammzelltransplantierten Patienten. Während die sieben Patienten (58 Prozent), welche angaben, noch keine Influenzaimpfung erhalten zu haben, mit 11,1 über den höchsten mittleren Titer gegen Influenza A, sowie mit 42 Prozent über einen hohen Anteil an protektiven Titern vor Immunisierung verfügen, zeigt sich bei den drei Patienten (25 Prozent), welche im Vorjahr bzw. vor 2 Jahren immunisiert wurden, ein deutlich geringerer Titer von 4,2 vor der Impfung. Auch verfügte keiner der drei Patienten über einen protektiven Titer vor der Immunisierung. Bei den Patienten mit verschiedenen Malignomen unter zytostatischer Therapie zeigten sich zwischen den im Vorjahr immunisierten Patien-

ten und den Patienten ohne vorangegangene Impfung keine großen Unterschiede. Aber auch in dieser Gruppe konnte bei den nicht immunisierten Personen vor der Impfung ein mittlerer Titer von 14,4, sowie ein Anteil protektiver Titer von 80 Prozent gegen Influenza A und 40 Prozent gegen Influenza B nachgewiesen werden.

Auf die weiteren kleineren Gruppen soll diesbezüglich im Folgenden nicht näher eingegangen werden, aber auch diese zeigen jeweils unterschiedlich hohe Anteile an Patienten mit bereits vor der Immunisierung bestehenden protektiven Titern gegen die aktuellen Virusstämme.

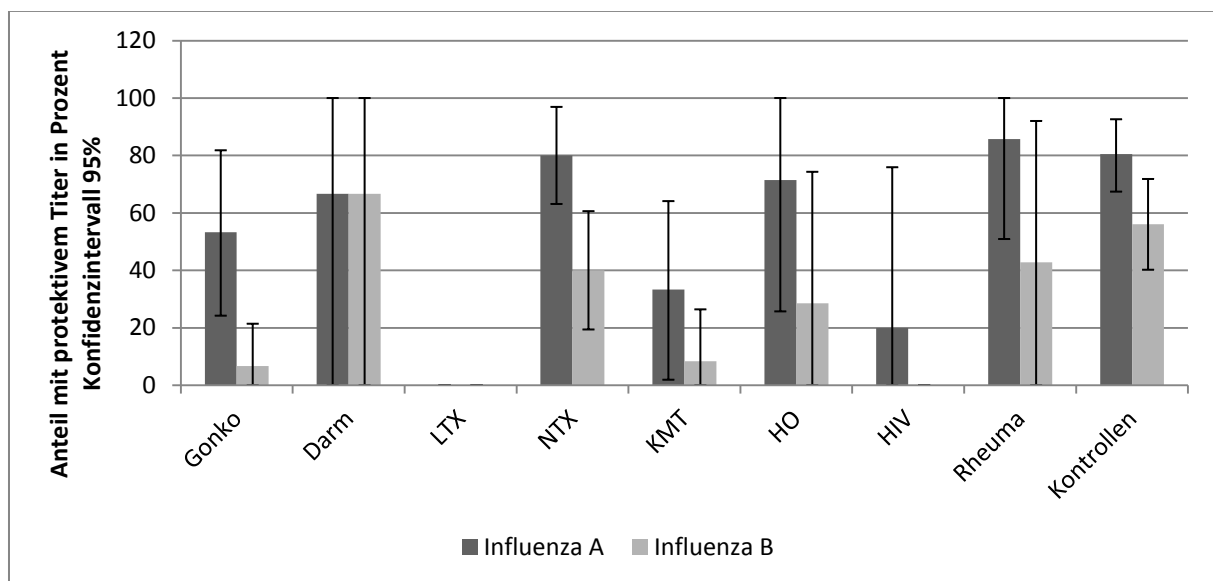


Abbildung 20: Anteil an Personen mit protektivem Titer vor Immunisierung in Prozent im Virotech-ELISA

3.4.2 Auswertung Virotech-ELISA ohne Patienten mit vorbestehenden protektiven Titer

Da es durchaus wahrscheinlich erscheint, dass Patienten, welche bereits im Vorjahr gegen dieselben Influenzasubtypen immunisiert worden sind, nach der aktuellen Impfung im Vergleich zu Patienten ohne vorangegangene Impfung eine abweichende Antikörperantwort zeigen (67), wurden nochmals allein die Ergebnisse aller Probanden ohne vorbestehende protektive Titer ausgewertet (Abb. 14,15).

Insbesondere bei den gesunden Kontrollpersonen zeigt sich bei Influenza A und B ein deutlich höherer mittlerer Titeranstieg (3,26 vs. 2 bei Influenza A, 3,63 vs. 2,4 bei Influenza B). In den einzelnen Patientengruppen lassen sich dagegen meist gering-

fällig höherer oder niedrigere mittlere Titeranstiege erkennen. Insbesondere bei den Patienten aus der hämatologisch-onkologischen und infektiologischen Ambulanz kann ein deutlich geringerer mittlerer Titeranstieg gezeigt werden. Höhere mittlere Titeranstiege erkennt man dagegen bei den Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und rheumatologischen Erkrankungen, sowie bei den Patienten aus der nephrologischen Ambulanz. Insgesamt fällt jedoch der mittlere Titeranstieg in Relation zu den immunkompetenten Personen bei allen Patientengruppen geringer aus. Betrachtet man die Anteile an Patienten mit protektiven Titer nach Immunisierung, so zeigt sich bei den Patienten mit Malignomen des Gastrointestinaltrakts sowie bei den Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und rheumatologischen Erkrankungen keine wesentliche Veränderung. Bei den Patienten nach allogener Nierentransplantation ist der Anteil mit protektivem Titer nach Immunisierung bei Influenza A und B um jeweils 30 Prozent geringer. Wie bereits aus dem mittleren Titeranstieg zu erwarten, zeigen sich die geringsten Anteile an Patienten mit protektiven Titer nach Immunisierung bei den Patienten aus der hämatologisch onkologischen und infektiologischen Ambulanz. So erreicht keiner der Patienten unter zytostatischer Therapie sowie jeweils nur 25 Prozent der Patienten nach allogener Stammzelltransplantation bzw. mit nachgewiesener HIV-Infektion einen protektiven Titer gegen Influenza A. Auch gegen Influenza B erreichen jeweils nur etwa 20 Prozent der drei Patientengruppen einen protektiven Titer.

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse der Auswertung aller Patienten auf die Ergebnisse der Patienten ohne vorbestehende protektive Titer gut übertragen. Dabei stellen sich hier die Unterschiede in der Antikörperantwort zwischen den einzelnen Gruppen noch deutlicher heraus. So kann insbesondere bei den Patienten nach allogener Stammzell- und solider Organtransplantation, sowie bei den Patienten unter zytostatischer Therapie und mit HIV-Infektion sowohl ein deutlich reduzierter mittlerer Titeranstieg, als auch ein noch geringerer Anteil an Patienten mit protektivem Titer nach Immunisierung gezeigt werden. Bei den Patienten mit Malignomen des Gastrointestinaltrakts sowie bei den Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und rheumatologischen Erkrankungen lässt sich dagegen weiterhin nur eine gering reduzierte Antikörperantwort beobachten.

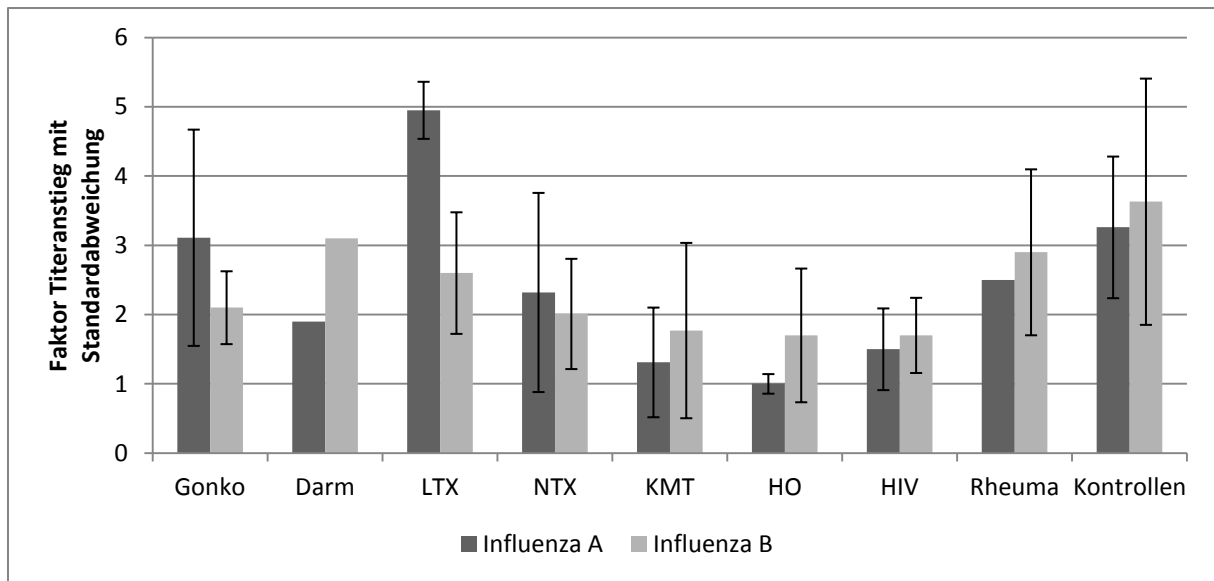


Abbildung 21: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen abzüglich der Probanden mit vorbestehendem protektiven Titer im Virotech-ELISA

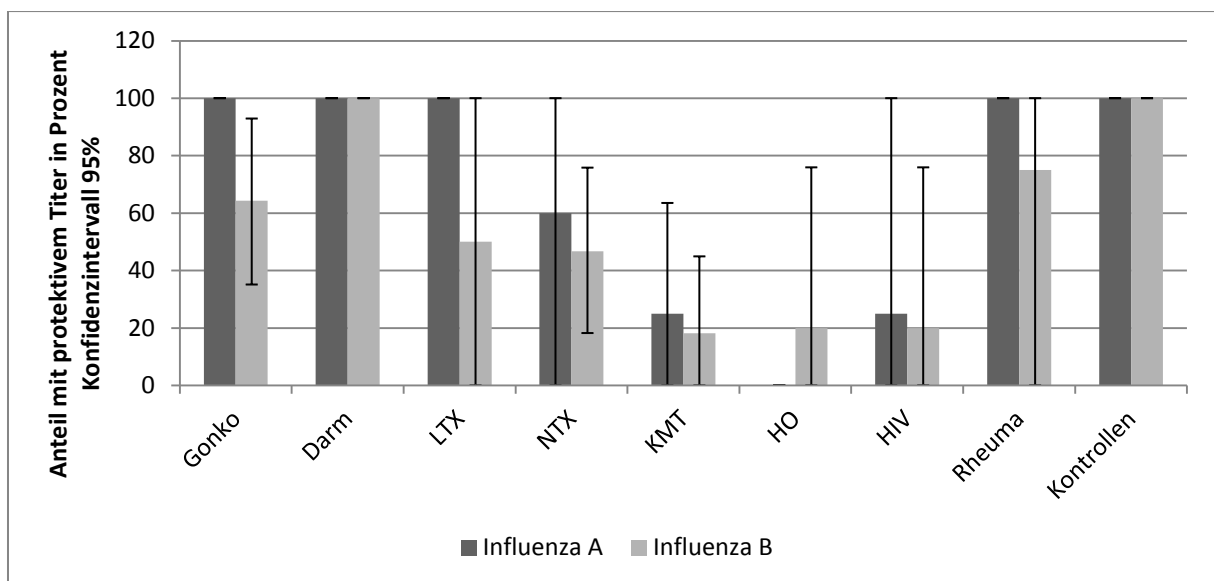


Abbildung 22: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent abzüglich der Probanden mit vorbestehendem protektiven Titer im Virotech-ELISA

3.5 Vergleich der Ergebnisse im Virotech-ELISA und Virion/Serion-ELISA

Vergleicht man die Ergebnisse beider Tests direkt miteinander, so zeigt sich zum einen, dass bei denselben Patientenproben im ELISA von Virion/Serion fast durchgehend höhere mittlere Titeranstiege gemessen wurden (Abb. 16/17). Zum anderen ist jedoch in demselben Test der Anteil an Personen mit protektivem Titer nach Immunisierung deutlich geringer (Abb. 18/19).

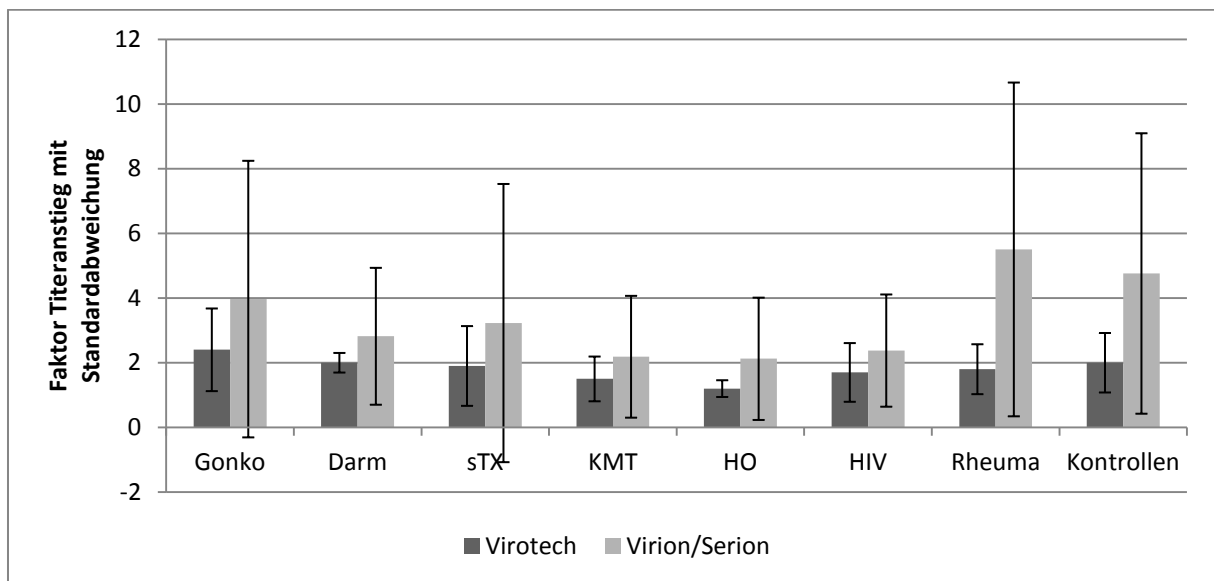


Abbildung 23: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen gegen Influenza A im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA

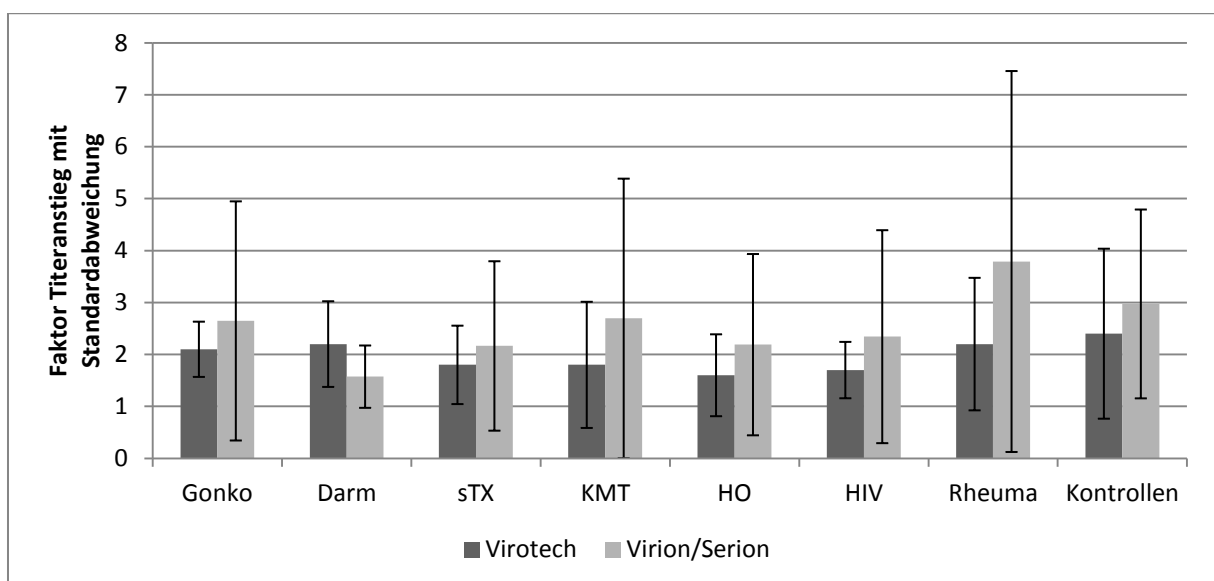


Abbildung 24: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen gegen Influenza B im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA

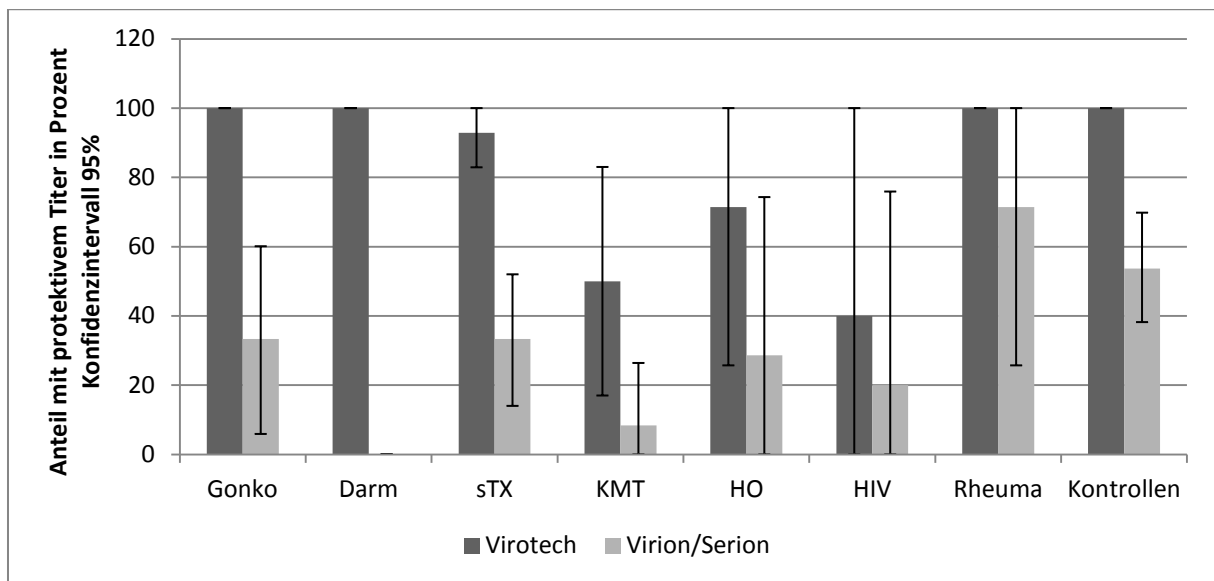


Abbildung 25: Anteil der Personen mit protektivem Titer gegen Influenza A in Prozent im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA

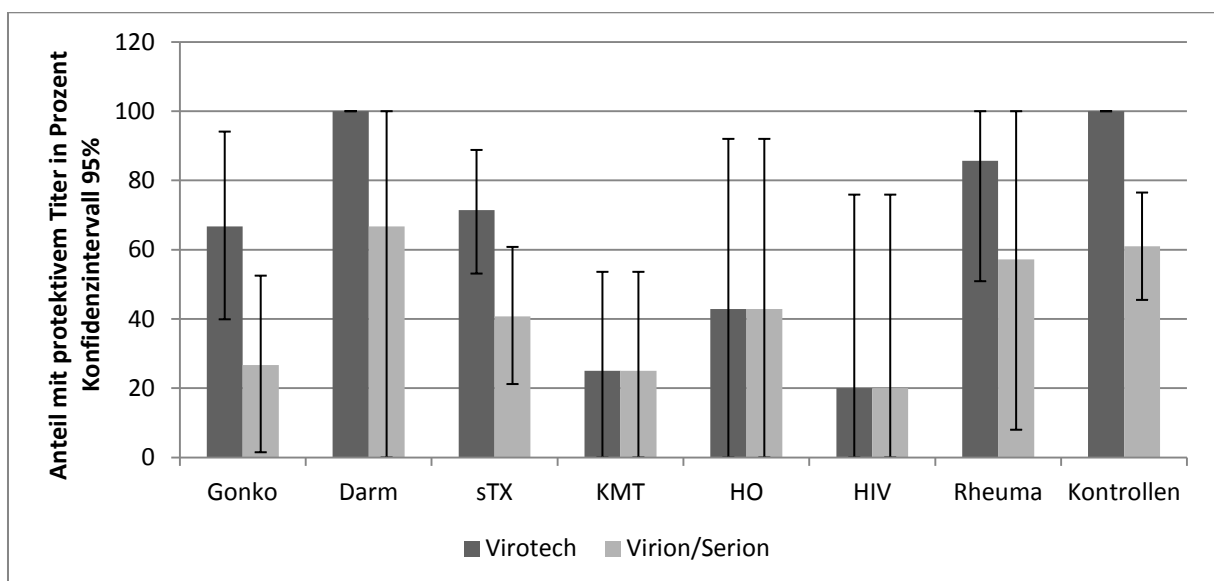


Abbildung 26: Anteil der Personen mit protektivem Titer gegen Influenza B in Prozent im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA

4. Diskussion

Die jährliche Immunisierung gegen die saisonale Influenza wird als Indikationsimpfung für immunsupprimierte Personen sowohl in Deutschland durch die ständige Impfkommission des Robert-Koch-Instituts als auch von diversen anderen nationalen Impfkommissionen empfohlen (30, 23). Ziel ist eine Reduktion der Morbidität durch die primäre Infektion und deren Komplikationen sowie die Reduktion der influenzaassoziierten Mortalität.

In dieser Arbeit wurde die Antikörperantwort sowie der Immunisierungserfolg bei einer sehr heterogenen Gruppe von immunsupprimierten Patienten sowie bei gesunden immunkompetenten Kontrollpersonen untersucht.

Im Folgenden werden die hierbei entstandenen Ergebnisse sowie deren Einordnung im Vergleich zu anderen bereits vorliegenden Studien diskutiert.

Insgesamt wurden 76 Patienten aus den verschiedenen Ambulanzen und Polikliniken in die Studie eingeschlossen, deren Durchschnittsalter 51,2 Jahre betrug. Im Vergleich dazu errechnet sich bei den immunkompetenten Kontrollpersonen ein Durchschnittsalter von 31,8 Jahren. Bereits Goodwin et al. konnten bei älteren Probanden eine im Vergleich zu jüngeren Probanden erniedrigte Rate an Serokonversionen zeigen (44). Inwieweit dies Einfluss auf die vorliegenden Ergebnisse hat, lässt sich anhand der vorliegenden Daten nicht ableiten.

Der durchschnittliche Abstand zwischen Immunisierung und zweiter Blutentnahme war bei den teilnehmenden immunsupprimierten und immunkompetenten Probanden im Durchschnitt 33,7 bzw. 32,6 Tage, somit gut vergleichbar.

Die 14 Patienten aus der Ambulanz für gastroenterologische Onkologie, welche sich unter primärer oder adjuvanter zytostatischer Therapie befanden, erreichten im Virotech-ELISA alle einen ausreichenden Schutztiter gegen Influenza A, ein signifikant geringerer Anteil jedoch gegen Influenza B. Die Personengruppe zeigte gegen Influenza A und B jeweils einen signifikanten Titeranstieg, diese waren im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen nicht signifikant verändert. Bei gegenüber den gesunden Kontrollpersonen ebenso nicht signifikant verringerten mittleren Titeranstiegen erreichte im Virion/Serion-ELISA ein jeweils deutlich geringerer Anteil gegen Influenza A und B einen protektiven Titer.

In den vorliegenden Publikationen finden sich sehr wenig vergleichbare Daten. Puthillath et al. konnten nach Immunisierung gegen Influenza bei 85 Patienten mit kolorektalem Karzinom im Vergleich der Patientengruppen mit und ohne zytostatische Therapie keinen Unterschied in der Immunantwort zeigen (89). Bezüglich der klinischen Effektivität beobachtete Earle et al. ältere Patienten mit fortgeschrittenem kolorektalen Karzinom nach Immunisierung gegen Influenza und konnte dabei bei den immunisierten Patienten zum einen eine geringere Rate an Unterbrechungen der zytostatischen Therapie, zum anderen eine höhere Gesamtüberlebensrate bis zum nächsten Herbst zeigen (28).

Erweitert zu dieser Patientengruppe sollten im Folgenden zugleich die Patienten mit anderen Malignomen unter zytostatischer Therapie mit einbezogen werden.

Diese zeigten im Virotech-ELISA keinen signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza B, zudem erreichte mit 43 Prozent ein gegenüber den gesunden Kontrollpersonen signifikant geringerer Anteil einen protektiven Titer gegen Influenza B. Gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen war der mittlere Titeranstieg gegen Influenza A signifikant verringert. Im ELISA von Virion/Serion war der Unterschied im Erreichen eines jeweils protektiven Titers gegen Influenza A und B nicht signifikant. Jedoch zeigte sich auch hier der mittlere Titeranstieg gegen Influenza A signifikant verringert.

Vergleicht man dieses Kollektiv mit der Gruppe der Patienten mit soliden Tumoren des Gastrointestinaltrakts, so zeigt sich hier in beiden ELISA eine geringere Antikörperantwort, im Virotech-ELISA ein signifikant geringerer mittlerer Titeranstieg gegen Influenza A, der Anteil an Patienten mit protektivem Titer nach Immunisierung war nicht signifikant unterschiedlich. Korrelierend dazu konnte im Vergleich zu den Patienten mit Tumoren des Gastrointestinaltrakts bei den Patienten aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz vor und nach der Immunisierung eine geringere durchschnittliche absolute Lymphozytenzahl nachgewiesen werden (Abb. 9).

Im Vergleich der Ergebnisse zu anderen publizierten Studien zeigt sich in einem Review zwölf publizierter Studien bei Gross et al. allgemein bei Tumorpatienten unter zytostatischer Therapie eine verringerte Antikörperantwort nach Immunisierung gegen Influenza (47).

Stiver et al. untersuchte die Antikörperantwort nach Immunisierung gegen Influenza bei Patienten mit soliden Tumoren und Lymphomen sowie bei gesunden Kontrollper-

sonen. Hierbei erreichten die Tumorpatienten jeweils einen geringeren mittleren Titeranstieg, sowie ein jeweils geringerer Anteil einen signifikanten Titeranstieg. Im Vergleich beider Tumorpatientengruppen erreichte ein deutlich geringerer Anteil der Patienten mit Lymphom einen signifikanten Titeranstieg (104).

Bei Schildt et al. zeigte sich bei den Patienten mit soliden Tumoren unabhängig von Art und Zeitpunkt der Chemotherapie eine zur Gruppe der gesunden Kontrollpersonen vergleichbare Antikörperantwort, während diese bei den Patienten mit Lymphom verringert war (96). Ebenso erreichte bei Nordoy et al. eine Gruppe von Patienten mit soliden Tumoren nach Immunisierung gegen Influenza eine zur Gruppe von immunkompetenten Kontrollpersonen vergleichbare Antikörperantwort, unabhängig von Art und Dauer der zytostatischen Therapie (86).

Ortbals et al. untersuchte Patienten mit lymphoretikulären Neoplasien und soliden Tumoren nach Immunisierung. Bei insgesamt verringerter Antikörperantwort der Tumorpatienten zeigte sich keine Abhängigkeit der Antikörperantwort bezüglich Tumorart, absoluter Lymphozytenzahl und Art der zytostatischen Therapie. Bei den Patienten, welche während eines Chemotherapiezyklus immunisiert wurden, war der Anteil mit ausreichendem Schutztiter nach Immunisierung deutlich geringer als bei den Patienten, die zwischen zwei Chemotherapiezyklen immunisiert wurden (88). Bei Steinherz et al. erreichte in einem Kollektiv von Kindern und Jugendlichen mit verschiedenen neoplastischen Erkrankungen ein geringerer Anteil der Patienten nach Immunisierung unter Chemotherapie einen signifikanten Titeranstieg, als die Patienten nach Immunisierung in einer Therapiepause (101).

Bei Ferry et al. zeigte eine Gruppe von Patienten mit lymphoproliferativen hämatologischen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen nach Immunisierung einen verminderten mittleren Titeranstieg sowie geringere absolute Antikörpertiter. Die geringste Antikörperantwort zeigte sich bei Patienten mit Hodgkin-Lymphom und multiplem Myelom (34). Bei Gribabis et al. zeigten nur 63 Prozent der Patienten mit chronischer B-Zell-Leukämie einen protektiven Antikörpertiter gegen Influenza nach Immunisierung (46).

Brydak et al. sowie Mazza et al. konnten bei Lymphompatienten gegenüber gesunden Kontrollpersonen jeweils deutlich verringerte mittlere Titeranstiege bzw. geringere Anteile an Personen mit signifikantem Titeranstieg zeigen (15, 75).

Zusammenfassend stützen vorangegangene Studie weitgehend unsere Daten einer im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen allenfalls mäßig verringerten Antikörper-

antwort von Patienten mit soliden Tumoren sowie einer deutlich verringerten Antikörperantwort bei Patienten mit Lymphomen und Leukämien, sowohl beim mittleren Titeranstieg als auch im Erreichen eines protektiven Titers. Obwohl von Stiver et al. als unabhängiger Faktor beschrieben (104), korreliert bei Betrachtung unserer Daten die verringerte durchschnittliche absolute Lymphozytenzahl der Patienten aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz mit einer teils signifikant verminderten Antikörperantwort nach Immunisierung. 15 unserer insgesamt 21 Patienten (71 Prozent) aus den beiden Ambulanzen erhielten sowohl innerhalb drei Monate vor Immunisierung, als auch in den zwei Wochen nach Immunisierung eine intravenös zytostatische Therapie. Vier Patienten befanden sich unter oraler zytostatischer Therapie, nur zwei Patienten befanden sich in einer längeren Therapiepause. Somit lässt sich ein möglicher positiver Einfluss auf die Antikörperantwort durch Immunisierung in einer Therapiepause, wie dies von Ortals et al. gezeigt werden konnte (88), nicht herausstellen.

Die Patienten aus der gastroenterologischen Ambulanz mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung erreichten im ELISA von Virotech wie die immunkompetenten Kontrollpersonen alle einen protektiven Titer gegen Influenza A und B. Der durchschnittliche mittlere Titeranstieg war bei Influenza A vergleichbar mit dem der immunkompetenten Kontrollpersonen, bei Influenza B nur geringfügig verringert. Im Virion/Serion-ELISA erreichte keiner der Patienten einen protektiven Titer gegen Influenza A, zwei der drei Patienten erreichten einen ausreichenden Titer gegen Influenza B. Der mittlere Titeranstieg gegenüber den gesunden Probanden war bei Influenza B signifikant verringert. Die ausgeprägten Unterschiede der Ergebnisse beider ELISA-Tests lassen sich dabei unter anderem auch auf zufällige Fehler im Rahmen der geringen Anzahl an Patienten zurückführen.

Bei insgesamt nur in geringer Anzahl vorliegenden Daten untersuchten Lu Y et al. die Effektivität einer Influenzaimmunisierung bei Kinder und Jugendlichen mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung. Dabei war der Anteil an Kindern, welche drei bis neun Wochen nach Immunisierung einen protektiven Titer erreichten, vergleichbar in den Gruppen der Patienten mit und ohne immunsuppressive Behandlung. Lediglich bei Patienten unter Therapie mit TNF-alpha-Antagonisten war der Anteil an Kindern mit protektivem Titer verringert (71). Dagegen konnten Mamula et al. bei Kindern mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung sowohl unter Therapie mit Infliximab als auch unter immunmodulatorischer Therapie mit 6-Mercaptopurin, Methotrexat oder

Steroiden einen im Vergleich zu immunkompetenten Kindern verringerten Anteil an Serokonversionen nach Immunisierung zeigen (74). Gelinck et al. untersuchten die Effektivität einer Influenzaimmunisierung bei einem Kollektiv von 22 Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung sowie 90 Patienten mit rheumatologischen Erkrankungen. Zwischen den untersuchten Gruppen (Immunsuppression mit TNF-alpha-Antagonist, Immunsuppression ohne TNF-alpha-Antagonist und immunkompetente Kontrollpersonen) zeigten sich im Erreichen eines protektiven Titers keine signifikanten Unterschiede. Jedoch war der mittlere Antikörpertiter nach Immunisierung bei den Patienten unter Therapie mit TNF-alpha-Antagonisten geringer (42).

Betrachtet man unabhängig von der Grunderkrankung nur die immunsuppressive Therapie mit Azathioprin, so konnte Huang et al. bei Patienten nach Nierentransplantation ein vermindertes Ansprechen der Patienten unter Therapie mit Azathioprin im Vergleich zu immunkompetenten Kontrollpersonen nach Immunisierung zeigen (54). Ebenso bei Patienten nach allogener Nierentransplantation konnten Versluis et al. keinen signifikanten Unterschied in der Antikörperantwort nach Immunisierung zwischen immunkompetenten Kontrollpersonen und Patienten unter Therapie mit Azathioprin zeigen (108).

Zusammenfassend kann die Beobachtung aus den eigenen Daten im Virotech-ELISA einer im Vergleich zu immunkompetenten Personen annähernd vergleichbaren Antikörperantwort nach Immunisierung bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung durch die vorliegenden Studien weitgehend bestätigt werden. Aufgrund der jedoch sehr heterogenen Gruppenbildung bezüglich der immunsuppressiven Therapie in den einzelnen Studien ist ein direkter Vergleich nicht herzustellen. Vergleicht man die eigenen Daten wiederum mit Studien, welche die Immunantwort nach Immunisierung bei Patienten unter Therapie mit ausschließlich Azathioprin, jedoch mit einer anderen Grunderkrankung untersucht haben, so können auch hier die eigenen Ergebnisse teils bestätigt werden. Zu postulieren bleibt sicherlich eine deutlich geringere negative Beeinflussung der Antikörperantwort durch Antimetabolite wie Azathioprin und 6-Mecaptopurin im Gegensatz zu TNF-alpha-Antagonisten oder Calcineurininhibitoren.

Bei den 25 Patienten aus der nephrologischen Ambulanz zeigte sich im Virotech-ELISA der mittlere Titeranstieg bei Influenza B im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen signifikant vermindert. Ein signifikant geringerer Anteil erreichte einen protektiven Titer gegen Influenza B. Im ELISA von Virion/Serion waren die

mittleren Titeranstiege sowie die jeweiligen Anteile mit protektivem Titer nach Immunisierung gegenüber den immunkompetenten Probanden nicht signifikant verringert. In diversen Studien wurde bei nierentransplantierten Patienten die Antikörperantwort nach Immunisierung im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen gegen Influenza untersucht. In älteren Arbeiten konnten Briggs et al. und Carroll et al. bei nierentransplantierten Patienten unter Therapie mit Azathioprin im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine gleichwertige Antikörperantwort zeigen (514, 19), wohingegen Stiver et al. bei einem ähnlichen Patientengut eine im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen verringerte Antikörperantwort beobachten konnten (103).

Bei Versluis et al. und Huang et al. zeigte sich die Antikörperantwort nach Immunisierung bei nierentransplantierten Patienten unter Immunsuppression mit Cycloporin A deutlich verringert, zwischen den Patienten unter Therapie mit Azathioprin und den gesunden Kontrollpersonen konnte kein signifikanter Unterschied gezeigt werden (108, 54). Ebenso zeigten sich bei Birdwell et al. bei nierentransplantierten Patienten unter Therapie mit Tacrolimus im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen die Antikörperantwort sowie der Anteil an Personen mit protektivem Titer nach Immunisierung deutlich vermindert (11).

Scharpé et al., Keshtkar-Jahromi et al. und Smith et al. konnten bei nierentransplantierten Patienten insbesondere unter immunsuppressiver Therapie mit Mycophenolat mofetil geringere mittlere Titeranstiege sowie geringere Anteile an Patienten mit protektivem Titer zeigen (92, 64, 97). Ebenso eine signifikant verringerte Antikörperantwort konnte Evison et al. bei allogenen nierentransplantierten Personen unter Therapie mit Mycophenolat mofetil zeigen (33).

In neueren Studien waren sowohl bei Sanchez-Fructuoso et al, als auch bei Cavdar et al. der Anteil an Personen mit protektivem Titer nach Immunisierung bei gesunden Kontrollpersonen jeweils deutlich höher als bei nierentransplantierten Patienten unter Immunsuppression (91,20).

Zusammenfassend bestätigen unsere Ergebnisse weitgehend die Ergebnisse bereits vorliegender Studien. Unsere Patienten befanden sich überwiegend unter immunsuppressiver Therapie mit Calcineurininhibitoren, Mycophenolat mofetil und deren Kombinationen. Entsprechend unseren Ergebnissen zeigt sich in den bereits vorliegenden Studien für diese Patienten eine Reduktion sowohl des mittleren Titeranstiegs als auch des Anteils an Patienten mit protektivem Titer nach Immunisie-

rung. Auf einen zusätzlichen Effekt von Mycophenolat mofetil wird im Folgenden noch näher eingegangen.

Die 12 Patienten nach allogener Stammzelltransplantation zeigten im Virotech-ELISA einen signifikanten mittleren Titeranstieg gegen Influenza A und B, welcher gegenüber den immunkompetenten Kontrollpersonen nicht signifikant verringert war. Ein signifikant geringerer Anteil erreichte jedoch einen protektiven Titer gegen Influenza A und B. Bei insgesamt nicht signifikant ansteigendem Titer im ELISA von Virion/Serion war gegenüber den gesunden Kontrollpersonen der mittlere Titeranstieg bei Influenza A signifikant verringert. Sowohl gegen Influenza A als auch gegen Influenza B erreichte ein signifikant geringerer Anteil einen protektiven Titer.

In bislang publizierten Studien erreichten bei Ghandi et al. acht Patienten, welche im Durchschnitt 16 Monate nach allogener Stammzelltransplantation mit dem saisonalen Influenzaimpfstoff immunisiert worden waren, vier Wochen nach Immunisierung keiner der Patienten einen protektiven Titer (39). Bei fünf pädiatrischen Patienten nach allogener Stammzelltransplantation zeigte sich bei auch Haining et al. nach Immunisierung gegen Influenza bei keinem der Patienten eine Antikörperantwort (49).

Engelhard et al. konnte eine deutliche Abhängigkeit des Immunisierungserfolgs vom zeitlichen Abstand zwischen Transplantation und Immunisierung zeigen. Während innerhalb der ersten sechs Monate nach Transplantation keiner der Patienten einen protektiven Titer erreichen konnte, war der Immunisierungserfolg zwei Jahre nach Transplantation vergleichbar mit dem immunkompetenter gesunder Probanden (31). Betrachtet man im vorliegenden Kollektiv die fünf Patienten, welche innerhalb sechs Monaten nach Transplantation immunisiert wurden, so erreichten im Virotech-ELISA 40% einen protektiven Titer gegen Influenza A und 20% gegen Influenza B. In der Gruppe von fünf Patienten, welche mindestens zwei Jahre nach Transplantation immunisiert wurden, erreichten 80% gegen Influenza A und 40% gegen Influenza B einen protektiven Titer.

Hinweise für eine klinische Effektivität in einem ähnlichen Kollektiv zeigten sich bei Machado et al. Hier wurde bei 43 allogenen stammzelltransplantierten Patienten nach einer Zeit von mindestens sechs Monaten nach Transplantation im Rahmen eines Luftwegsinfekts das Nasensekret auf Influenzaviren getestet. Bei den bereits immunisierten Patienten konnten Influenzaviren nur in 11%, bei den nicht immunisierten Patienten in 50% der Fälle nachgewiesen werden (72).

Zusammenfassend wird unser Ergebnis einer deutlich verringerten Antikörperantwort bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation durch vorangegangene Studien bestätigt. Insbesondere die von Engelhard et al. gezeigte Abhängigkeit des Immunisierungserfolgs vom Zeitpunkt der Impfung nach Transplantation kann anhand unserer Daten ebenso gezeigt werden.

Unter Zusammenfassung sämtlicher allogenen stammzell-, sowie nieren- und lebertransplantierten Patienten, welche unter immunsuppressiver Therapie mit den oben genannten Medikamenten standen, zeigen sich insbesondere in Bezug auf die Verwendung von Mycophenolat mofetil (MMF) Unterschiede in der Antikörperantwort. Sowohl der mittlere Titeranstieg als auch der Anteil an Personen mit protektivem Schutztiter nach Immunisierung war in der Gruppe der Patienten unter Therapie mit Mycophenolat mofetil im Virotech-ELISA nicht signifikant geringer.

Cyclosporin A und Tacrolimus hemmen als Calcineurininhibitoren spezifisch die Aktivierung von T-Zellen und haben somit vorwiegend Einfluss auf die T-Zell vermittelte Immunität. Mycophenolat mofetil inhibiert über die Hemmung der Inosinmonophosphat-Dehydrogenase die De-novo-Purin-Synthese selektiv in allen Lymphozyten, also sowohl in T-Zellen als auch in B-Zellen (97). In vitro konnten Heidt et al. bei aufgereinigten B-Lymphozyten nach entsprechender Stimulation unter Anwesenheit von Mycophenolat eine Hemmung der B-Zell-Proliferation sowie der Immunglobulinproduktion zeigen (51). So konnten Eugui et al. bei Mäusen die T-Zell unabhängige Antikörperproduktion nach Gabe von Schafs-Erythrozyten durch die Gabe von Mycophenolat hemmen (32). Wie bereits dargestellt, zeigte sich auch in Studien bei Smith, Keshtkar-Jahromi und Scharpé die Antikörperantwort nach Immunisierung gegen Influenza bei Patienten unter Therapie mit Mycophenolat mofetil am stärksten verringert (92, 64).

Bei insgesamt geringer Patientenanzahl war bei den fünf Patienten aus der infektiologischen Ambulanz der mittlere Titeranstieg im Virotech-ELISA gegenüber den gesunden Kontrollpersonen jeweils nicht signifikant verringert. Gegen Influenza A konnte jedoch kein signifikanter Titeranstieg gezeigt werden. Ein signifikant geringerer Anteil erreichte einen protektiven Titer gegen Influenza B. Im ELISA von Virion/Serion konnte gegen Influenza A und B kein signifikanter mittlerer Titeranstieg gezeigt werden, sowohl der mittlere Titeranstieg als auch die Anteile an Personen

mit protektivem Titer waren jedoch gegenüber den gesunden Kontrollpersonen nicht signifikant verringert.

Auch für dieses Patientenkollektiv existiert bereits eine beträchtliche Anzahl an Studien, welche die Antikörperantwort nach Influenzaimmunisierung untersuchen. In drei älteren Studien von Ragni et al., Nelson et al. und Miotti et al. zeigte sich bei HIV positiven Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine verminderte Antikörperantwort (90, 81, 77). Ebenso konnten Zanetti et al. bei HIV positiven Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen eine verringerte Antikörperantwort nachweisen (116). Auch Amendola et al. konnten nach Immunisierung bei gesunden Kontrollpersonen im Vergleich zu HIV positiven Patienten einen höheren Anteil an Personen mit protektivem Antikörpertiter nach Immunisierung zeigen (2). Die klinische Effektivität einer Influenzaimmunisierung bei HIV-positiven Patienten untersuchten Tasker et al. Nach Immunisierung konnte in der nachfolgenden Influenzasaison bei den Patienten mit einer respiratorischen Infektion bei zehn Personen aus der Placebogruppe, jedoch bei keiner Person aus der Gruppe immunisierter Patienten eine Influenzainfektion laborchemisch nachgewiesen werden.

Fowke et al. sowie Kroon et al. und Iorio et al. postulieren anhand ihrer Daten eine proportionale Abhängigkeit der Antikörperantwort von der vorliegenden CD4-Zellzahl (38, 65, 55). So zeigte sich bei Fowke et al. erst ab einer CD4-Zellzahl von mehr als 300/ μ l eine moderate Immunantwort, welche im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen ebenso verringert war (38). Kroon et al. konnte bei HIV positiven Patienten, deren CD4-Zellzahl vergleichbar mit gesunden Kontrollpersonen war, eine vergleichbare Antikörperantwort zeigen. Dagegen konnte bei unbehandelten Patienten mit einer CD4-Zellzahl von weniger als 200/ μ l keine Immunantwort nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu erreichten Patienten, bei denen nach Start einer antiretroviralen Therapie die CD4-Zellzahl auf durchschnittlich mehr als 200/ μ l angestiegen war, eine signifikante Immunantwort (65).

Bei Vigano et al. zeigte sich bei HIV positiven Kindern mit einer durchschnittlichen CD4-Zellzahl von mehr als 900/ μ l nach Influenzaimmunisierung ein im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen verringerter mittlerer Titeranstieg (109). Ebenso einen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen verringerten mittleren Titeranstieg sowie einen geringeren Anteil mit protektiven Titer konnten Montoya et al. nach Influenzaimmunisierung bei HIV positiven Kindern nachweisen (79).

Evison et al. postuliert anhand seiner Daten, dass eine adäquate Antikörperantwort nach Influenzaimmunisierung bei HIV-positiven Patienten insbesondere von der aktuellen Viruslast und damit von der Effektivität der antiretroviralen Therapie abhängig ist. Die aktuell vorliegende CD4-Zellzahl trete dabei als Faktor für den Immunisierungserfolg als statistisch nicht signifikant in den Hintergrund (33). Ähnliche Ergebnisse konnte Yamanaka et al. aufweisen (114).

Nach Aufteilung der eigenen fünf Patienten in zwei Gruppen mit mehr bzw. weniger als 300 CD4-positive Zellen bei Immunisierung, zeigt sich bei den beiden Patienten mit einer CD4-Zellzahl von mehr als 300 Zellen/ μ l im Virotech-ELISA ein im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen nicht signifikant veränderter mittlerer Titeranstieg. Beide Patienten erreichten einen protektiven Titer gegen Influenza A, einer gegen Influenza B. In der Gruppe der drei Patienten mit einer CD4-Zellzahl von weniger als 300/ μ l zeigte sich der mittlere Titeranstieg gegen Influenza A signifikant gegenüber den gesunden Kontrollpersonen verringert. Sowohl gegen Influenza A als auch gegen Influenza B erreichte keiner einen protektiven Titer. Alle Patienten befanden sich unter HAART (highly active antiretroviral therapy).

Zusammenfassend bestätigt unser Ergebnis einer deutlich verminderten Antikörperantwort bei HIV-positiven Personen weitgehend die Ergebnisse bereits vorangegangener Studien. Zudem lässt sich bei Betrachtung unserer Daten durchaus eine Abhängigkeit der Antikörperantwort und des Impferfolgs von der vorliegenden CD4- Zellzahl beobachten.

Aus der rheumatologischen Ambulanz erreichten die sieben teilnehmenden Patienten jeweils einen signifikanten mittleren Titeranstieg, im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen jeweils nicht signifikant verringert. Bei Influenza A erreichten alle Patienten, bei Influenza B sechs von den sieben Patienten einen protektiven Titer. Im ELISA von Virion/Serion war im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen sowohl der mittlere Titeranstieg als auch der Anteil an Patienten mit protektivem Titer nicht signifikant verändert.

Die Effektivität einer Immunisierung gegen Influenza bei Personen mit rheumatischen Erkrankungen wurde in diversen Studien untersucht und von Glück et al. und Brezinsek et al. reviewed (43, 13). Diese zeigen eine allenfalls gering verminderte Antikörperantwort nach Influenzaimmunisierung, insbesondere bei Patienten unter

immunsuppressiver Therapie mit TNF-alpha Antagonisten. Viele der immunisierten Patienten erreichen jedoch protektive Titer.

Patienten mit rheumatoider Arthritis zeigten bei Fomin et al., Chalmers et al. und Del Porto et al. gegenüber gesunden Kontrollpersonen unabhängig von der immunsuppressiven Therapie einen vergleichbaren mittleren Titeranstieg (36, 21, 25).

Bei Kapetanovic et al. zeigte sich bei Patienten mit rheumatoider Arthritis unter Therapie mit TNF-alpha-Antagonisten die Antikörperantwort nach Immunisierung verringert gegenüber gesunden Kontrollpersonen und Patienten unter Therapie mit Methotrexat (63). Bei Kaine et al. erreichte ein vergleichbarer Anteil von Patienten mit rheumatoider Arthritis unter Therapie mit Adalimumab und von gesunden Kontrollpersonen einen protektiven Titer nach Influenzaimmunisierung (61).

Bei Abu-Shakra et al. erreichten Patienten mit systemischen Lupus erythematodes unter Therapie mit Methotrexat nach Immunisierung eine gegenüber gesunden Kontrollpersonen vergleichbare Antikörperantwort (1). Einen vergleichbaren Titeranstieg nach Impfung gegenüber gesunden Kontrollpersonen erreichten auch bei Holvast et al. Patienten mit systemischen Lupus erythematodes (53). Bei Kanakoudi-Tsakalidou et al. zeigten pädiatrische Patienten mit chronisch rheumatischen Erkrankungen unabhängig von der immunsuppressiven Therapie eine gegenüber gesunden Kontrollpersonen vergleichbare Antikörperantwort nach Immunisierung (62).

Bezüglich der klinischen Effektivität konnte Stojanovich bei Patienten mit systemischen Lupus erythematodes und rheumatoider Arthritis nach Influenzaimpfung in der Gruppe der immunisierten Personen eine deutlich geringere Anzahl an Atemwegsinfektion als in der nicht immunisierten Gruppe nachweisen (106).

Zusammenfassend bestätigen unsere Ergebnisse einer vergleichbaren bzw. allenfalls gering verringerten Antikörperantwort die Daten vorangegangener Studien. Differenziert nach der immunsuppressiven Medikation zeigen die Patienten unter Methotrexat gegenüber den gesunden Kontrollpersonen sogar einen höheren mittleren Titeranstieg, bei den Patienten unter Cyclophosphamid sowie unter TNF-alpha Antagonisten ist im Virotech-ELISA der mittlere Titeranstieg im Vergleich nicht signifikant verringert.

Wie dargestellt weist ein Großteil der immunkompetenten Kontrollprobanden sowie ein beträchtlicher Teil der immunsupprimierten Probanden bereits vor der Immunisierung protektive Titer im Virotech-ELISA auf. Ursachen sind hierzu mehrere zu nen-

nen. Zum einen wurde, wie bereits erwähnt, gegen dieselben Virusstämme (A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Moscow/10/99 (H3N2), B/Hong Kong/330/2001) bereits im Vorjahr 2002 immunisiert, gegen die beiden Influenza A-Virusstämme auch schon 2000 und 2001 (3, 4, 5). Somit erscheint nicht verwunderlich, dass Patienten und Kontrollpersonen, welche im Vorjahr oder sogar schon über Jahre hinweg jährlich geimpft wurden, über höhere mittlere Titer und zum Teil noch über protektive Titer gegen diese Virusstämme verfügen. Entsprechend zeigen unsere Daten, dass die Patienten, welche nach eigenen Angaben zuletzt vor mehr als drei Jahre geimpft wurden, über deutlich niedrigere Titer gegen die aktuellen Virusstämme verfügen.

Für die überraschend hohen Titer und Anteile an protektivem Titer gegen die zu impfenden Virusstämme bei Patienten und Kontrollpersonen, welche nach eigenen Angaben noch nie gegen Influenza immunisiert worden waren, lassen sich mehrere Ursachen postulieren. Zum einen wird seit der Saison 2000/2001 entsprechend der Empfehlung der WHO in Deutschland gegen die beiden auch aktuell verwendeten Influenza A-Virusstämme immunisiert (3, 4, 5). Es ist also davon auszugehen, dass beide Virusstämme bereits seit mindestens drei Jahren in der Bevölkerung zirkulieren und die teilnehmenden Patienten und Kontrollpersonen ausreichend lange Zeit hatten, mit den spezifischen Viren klinisch oder auch subklinisch in Kontakt zu treten und eine entsprechende Antikörperantwort auszubilden. Zum anderen ist es möglich, dass bei vielen Patienten aufgrund ihrer Grunderkrankung oder ihrer spezifischen Therapie die Gabe von Fremdblut oder Immunglobulin-Präparaten indiziert war und somit auch die Übertragung influenzaspezifischer Antikörper möglich war. Dies wurde im Rahmen der standardisierten Anamnese nicht erfasst. Nicht zuletzt sind sicherlich auch fehlerhafte Angaben der Patienten bezüglich ihrer Impfanamnese in Erwägung zu ziehen.

Im Vergleich beider ELISA-Testkits konnten deutliche Unterschiede bezüglich der mittleren Titeranstiege sowie der Anteile an Personen mit protektivem Titer nach Immunisierung gezeigt werden.

Nach Herstellerangaben wurde der ELISA von Virotech bezüglich Sensitivität und Spezifität mit einem Hämagglutininhemmtest als Referenzsystem abgeglichen und entsprechend die Grenzwerte für negative und positive Antikörpertiter erstellt. Der ELISA von Virion/Serion ist nach Herstellerangaben vor allem zum Nachweis einer akuten Infektion vorgesehen und dafür ebenfalls mit einem Hämagglutininhemmtest

abgeglichen. Zur Verbesserung von Sensitivität und Spezifität ist laut Hersteller dabei auch die gleichzeitige Bestimmung von influenzaspezifischem IgA vorgesehen. Bei der Verwendung von subtypenunspezifischen Antigenen wurde zur Minimierung falsch positiver Ergebnisse beim IgG-Nachweis einer akuten Infektion für einen positiven Befund entsprechend eine hohe Grenze von 15 U/ml festgelegt. Dies erklärt bei unseren Ergebnissen sicher den deutlich geringeren Anteil an Patienten mit protektivem Titer nach Immunisierung. Als Ursache für die überwiegend deutlich höheren mittleren Titeranstiege im ELISA von Virion/Serion ist zu postulieren, dass es nach Immunisierung mit dem saisonalen Impfstoff 2003/2004 über Kreuzantigenitäten auch zur Stimulation von Antikörpern früherer Infektionen oder Immunisierungen mit anderen Subtypen kam. Entsprechend wurden auch diese im unspezifischen ELISA von Virion/Serion erfasst und bedingen damit den höheren mittleren Titeranstieg.

5. Zusammenfassung

Über die Immunogenität der gegenwärtigen Influenzaimmunisierung bei immunsupprimierten Menschen insbesondere auf serologischer Ebene wird in der bislang publizierten Fachliteratur äußerst kontrovers diskutiert. Dabei zeigt sich bei den Studien eine ausgeprägte Heterogenität des Studiendesigns sowie des untersuchten Patientenkollektivs. In dieser Arbeit wurde die Antikörperantwort nach Immunisierung mit dem aktuellen trivalenten Grippeimpfstoff der Saison 2003/2004 bei einer heterogenen Gruppe immunsupprimierter Patienten im Vergleich zu immunkompetenten Kontrollpersonen untersucht.

Folgende Ergebnisse lassen sich zusammenfassen:

1. Alle immunkompetenten Probanden erreichen nach Immunisierung einen signifikanten Titeranstieg sowie einen protektiven Titer.
2. Insgesamt zeigt sich bei den immunsupprimierten Patienten im Vergleich zu den immunkompetenten Probanden eine reduzierte Antikörperantwort, dabei ist die Reduktion der Antikörperantwort abhängig von Art und Intensität der Immunsuppression und Grunderkrankung.
3. Signifikante Reduktionen der Antikörperantwort zeigen sich insbesondere bei Patienten unter intravenös zytostatischer Therapie, bei Patienten mit HIV-Infektion, sowie bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation und soliden Organstransplantation.
4. Unter zytostatischer Therapie zeigt sich bei Patienten mit hämatopoetischen Malignomen und Lymphomen eine geringere Antikörperantwort als bei Patienten mit soliden Tumoren, dabei lässt sich ein Zusammenhang der Antikörperantwort mit der absoluten Lymphozytenzahl erkennen.
5. Bei Patienten mit HIV-Infektion lässt sich ein nicht signifikanter Unterschied der Antikörperantwort in Abhängigkeit von der CD4-Zellzahl darstellen.
6. Bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation zeigt sich eine Abhängigkeit der Antikörperantwort vom Zeitpunkt der Immunisierung nach Transplantation.
7. Unter immunsuppressiver Therapie mit Mycophenolat mofetil lässt sich im Vergleich zur Therapie mit Calcineurininhibitoren oder Sirolimus keine signifikant stärkere Reduktion der Antikörperantwort darstellen.

8. Bei Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung oder rheumatologischer Erkrankung zeigt sich unter immunsuppressiver Therapie mit Methotrexat und Azathioprin im Vergleich zu den immunkompetenten Personen eine allenfalls geringgradige, meist nicht signifikante Reduktion der Antikörperantwort.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Abu-Shakra M, Press J, Varsano N, Levy V, Mendelson E, Sikenik S, Buskila D: Specific antibody response after influenza immunization in systemic lupus erythematoses. *J Rheumatol.* 2002; 29: 2555-2557
- [2] Amendola A, Boschini A, Colzani D, Anselmi H, Oltolina A, Zucconi R, Begnini M, Besana S, Tanzi E, Zanetti A: Influenza vaccination of HIV-1-positive and HIV-1- negative former intravenous drug users. *J Med Virol.* 2001; 65: 644-648
- [3] Arbeitsgemeinschaft Influenza am Robert Koch-Institut: Saisonabschlussbericht der Arbeitsgemeinschaft Influenza 2000/2001. Robert Koch-Institut 2001
- [4] Arbeitsgemeinschaft Influenza am Robert Koch-Institut: Saisonabschlussbericht der Arbeitsgemeinschaft Influenza 2001/2002. Robert Koch-Institut 2002
- [5] Arbeitsgemeinschaft Influenza am Robert Koch-Institut: Saisonabschlussbericht der Arbeitsgemeinschaft Influenza 2002/2003. Robert Koch-Institut 2003
- [6] Arbeitsgemeinschaft Influenza am Robert Koch-Institut: Saisonabschlussbericht der Arbeitsgemeinschaft Influenza 2003/2004. Robert Koch-Institut 2004
- [7] Babcock H, Merz L, Fraser V: Is influenza an influenza-like illness? Clinical presentation of influenza in hospitalized patients 2006; Vol.27: No. 3
- [8] Bernstein E, Gardner E, Abrutyn E, Gross P, Murasko D: Cytokine production after influenza vaccination in a healthy elderly population. *Vaccine* 1998; Vol. 16, No. 18: 1722-1731
- [9] Beyer W, Palache A, Jong de J, Osterhaus A: Cold-adapted live influenza vaccine versus inactivated vaccine: systemic vaccine reactions, local and systemic antibody response, and vaccine efficacy. A meta analysis. *Vaccine* 2002; 20: 1340-13583
- [10] Bhat N, Wright J, Broder K, Murray E, Greenberg M, Glover M, Likos A, Posey D, Klimov A, Lindstrom S, Balish A, Medina M, Wallis T, Guarner J, Paddock C, Shieh W, Zaki S, Sejvar J, Shay D, Harper S, Cox N, Fuduka K, Uyeki T: Influenza-associated deaths among children in the united states, 2003-2004. *N Eng J Med.* 2005; 353: 2259-2267
- [11] Birdwell K, Ikizler M, Sannella E, Wang L, Byrne D, Ikizler T, Wright P: Decreased antibody response to influenza vaccination in kidney transplant recipients: a prospective cohort study. *Am J Kidney Dis.* 2009; 54: 112-121

- [12] Boivin G, Hardy I, Tellier G, Maziade J: Predicting influenza infections during epidemics with use of a clinical case definition. *Clin Infect Dis*. 2000; 31: 1166-1169
- [13] Brezinschek H, Hofstaetter T, Leeb B, Haindl P, Graninger W: Immunization of patients with rheumatoid arthritis with antitumor necrosis factor alpha therapy and methotrexate. *Curr Opin Rheumatol*. 2008; 20: 295-299
- [14] Briggs W, Rozek R, Migdal S, Shillis J, Brackett R, Brandon F, Mahajan S, McDonald F: Influenza vaccination in kidney transplant recipients: Cellular and humoral immune response. *Annals of Internal Medicine*. 1980; 92: 471-477
- [15] Brydak L, Machala M, Centkowski P, Warzocha K, Bilinski P: Humoral response to haemagglutinin components of influenza vaccine in patients with non-Hodgkin malignant lymphoma. *Vaccine* 2006; 24: 44-46
- [16] Brydon E, Morris S, Sweet C: Role of apoptosis and cytokines in influenza virus morbidity. *FEMS Microbiology reviews* 2005; 29: 837-850
- [17] Buchholz U, Buda S, Grüber A, Schweiger B: Abschlussbericht der Influenzasaison 2007/08. Hg. Arbeitsgemeinschaft Influenza unter Federführung des Robert Koch-Instituts. Verlag im Kilian 2008.
- [18] Call S, Vollenweider M, Hornung C, Simel D, McKinney W: Does this patient have influenza? *Journal of the American Medical Association*. 2005; 293: 987-997
- [19] Carroll R, Marsh S, O'donoghue E, Breeze D, Shackmann R: Response to influenza vaccine by renal transplant patients. *British Medical Journal* 1974; 2: 701-703
- [20] Cavdar C, Sayan M, Sifil A, Yilmaz N, Bahar H, Camsari T: *Scand J Urol Nephrol*. 2003; 37: 71-76
- [21] Chalmers A, Scheifele D, Patterson C, Williams D, Weber J, Shuckett R, Teufel A: Immunization of patients with rheumatoid arthritis against influenza: a study of vaccine safety and immunogenicity. *J Rheumatol*. 1994; 21: 1203-1206
- [22] Committee on infectious diseases, American Academy of Pediatrics: Reduction of the influenza burden in children. *Pediatrics* 2002; 110: 1246-1252
- [23] Committee on infectious diseases, American Academy of Pediatrics: Prevention of influenza: Recommendations for influenza immunization of children, 2007-2008. *Pediatrics* 2008; 121: 1016-1031

- [24] Cox R, Brokstad K, Ogra P: Influenza virus: Immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza vaccines. *Scandinavian Journal of Immunology* 2004; 59: 1-15
- [25] Del Porto F, Lagana B, Biselli R, Donatelli I, Campitelli L, Nisini R, Cardelli P, Rossi F, D'Amelio R: Influenza vaccine administration in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Safety and immunogenicity. *Vaccine*. 2006; 24: 3217-3223
- [26] Deng Y, Jing Y, Campbell A, Gravenstein S: Age-related impaired type 1 T cell response to influenza: reduced activation ex vivo, decreased expansion in CTL culture vitro, and blunted response to influenza vaccination in vivo in the elderly. *J Immunol* 2004; 172: 3437-3446
- [27] Duchini A, Goss J, Karpen S, Pockros P: Vaccinations for adult solid-organ transplant recipients: Current recommendations and protocols. *Clinical microbiology reviews* 2003: 357-364
- [28] Earle C: Influenza vaccination in elderly patients with advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2003; 21: 1161-1166
- [29] Ebell M, White L, Casault T: A systematic review of the history and physical examination to diagnose influenza. *J. Am. Board Fam. Pract.* 2004; 17: 1-5
- [30] Empfehlungen der Ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert Koch-Institut/ Stand: Juli 2010, in *Epidemiologisches Bulletin* 30/2010, Hg. Robert Koch-Institut. Berlin 2010
- [31] Engelhard D, nagler A, Hardan I, Morag A, Aker M, Baciú H, Strauss N, Parag G, Naparstek E, Ravid Z: Antibody response to a two-dose regime of influenza vaccine in allogeneic T cell-depleted and autologous BMT recipients. *Bone Marrow Transplant*. 1993; 11: 1-5
- [32] Eugui E, Mirkovich A, Allison A: Lymphocyte-selective antiproliferative and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in mice. *Scand J Immunol*. 1991; 33: 175-183
- [33] Evison J, Farese S, Seitz M, Uehlinger D, Furrer H, Mühlemann K: Randomized, double-blind comparative trial of subunit and virosomal influenza vaccines for immunocompromised patients. *Clinical Infectious Diseases* 2009; 48: 1402-1412
- [34] Feery B, Sullivan J, Hurley T, Evered M: Immunization with influenza vaccine in patients with haematological diseases. *Med J Aust*. 1977; 1: 292-294

- [35] Fodor E, Brownlee G: Influenza virus replication, in: Influenza. Hg. Potter C.W, Elsevier Science, 2002
- [36] Fomin I, Caspi D, Levy V, Varsano N, Shalev Y, Paran D, Levartovsky D, Litinsky I, Kaufman I, Wigler I, Mendelson E, Elkayam O: Vaccination against influenza in rheumatoid arthritis: the effect of disease modifying drugs, including TNFalpha blockers. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 191-194
- [37] Fouchier R, Munster V, Wallensten A, Bestebroer T, Herfst S, Smith D: Characterization of a novel influenza A virus haemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814-2822
- [38] Fowke K, D'Amico R, Chernoff D, Pottage J Jr, Benson C, Sha B, Kessler H, Landay A, Shearer G: Immunologic and virologic evaluation after influenza vaccination of HIV-1-infected patients. *AIDS*. 1997; 11: 1013-1021
- [39] Gandhi M, Egner W, Sizer L, Inman I, Zambon M, Craig J, Marcus R: Antibody response to vaccinations given within the first two years after transplantation are similar between autologous peripheral blood stem cell and bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation* 2001; 28: 775-781
- [40] Gebrauchsanleitung Influenza A ELISA, Influenza B ELISA IgG/IgM Testkit. Virotech 2004
- [41] Gebrauchsanleitung Serion ELISA classic Influenza A Virus IgG/IgA (quant.), Influenza B Virus IgG/IgA (quant.). Virion/Serion 2005
- [42] Gelinck L, Bijl van der A, Beyer W, Visser L, Huizinga T, Hogezaand van R, Rimmelzwaan G, Kroon F: The effect of anti-tumor necrosis factor alpha treatment on the antibody response to influenza vaccination. *Ann Rheum Dis*. 2008; 67: 713-716
- [43] Glück T, Müller-Ladner U: Vaccination in patients with chronic rheumatic or autoimmune diseases. *Clinical Infectious Diseases*. 2008; 46: 1459-1465
- [44] Goodwin K, Viboud C, Simonsen L: Antibody response to influenza vaccination in the elderly: A quantitative review. *Vaccine* 2006; 24: 1159-1169
- [45] Govaert T, Sprenger M, Dinant G: Immune response to influenza vaccination in elderly people. A randomized double blind placebo-controlled trial. *Vaccine* 1994; 12: 1185-1189
- [46] Gribabis D, Panayiotidis P, Boussiotis V, Hannoun C, Pangalis G: Influenza virus vaccine in B-cell chronic lymphocytic leukaemia patients. *Haematol*. 1994; 91: 115-118

- [47] Gross P, Gould A, Brown A: Effect of cancer Chemotherapy on the immune response to influenza virus vaccine: review of published studies. *Rev Infect Dis.* 1985; 7: 613-618
- [48] Haas W. Abteilung für Infektionsepidemiologie, Robert Koch Institut: Nationaler Influenzapandemieplan Teil II, Analysen und Konzepte. Berlin 2005
- [49] Haining N, Evans J, Seth N, Callaway D, Wucherpfennig K, Nadler L, Guinan E: Measuring T cell immunity to influenza vaccination in children after haematopoietic stem cell transplantation. *British Journal of Haematology* 2004; 127: 322-325
- [50] Hampson A: Influenza virus antigens and “antigen drift”, in: *Influenza*. Hg. Potter C.W, Elsevier Science, 2002
- [51] Heidt S, Roelen D, Eijssink C, van Kooten C, Claas F, Mulder A: Effects of immunosuppressive drugs on purified human B cells: evidence supporting the use of MMF and rapamycin. *Transplantation.* 2009; 87: 307
- [52] Hof H, Dörries R, Müller , in: *Mikrobiologie*. Hg. Bob A, Bob K., Thieme, Mannheim 2000; S. 27, 179-181
- [53] Holvast A, Huckriede A, Wilschut J, Horst G, De Vries J, Benne C, Kallenberg C, Bijl M: Safety and efficacy of influenza vaccination in systemic lupus erythematoses patients with quiescent disease. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65: 913-918
- [54] Huan K, Armstrong J, Ho M: Antibody response after immunization in renal transplant patients receiving cyclosporine A or azathioprin. *Infection and immunity*; Apr. 1983: 421-424
- [55] Iorio A, Altari A, Francisci D, Preziosi R, Neri M, Donatelli I, Castrucci M, Biasio L, Tascini C, Iapoce R, Pierucci P, Baldelli F: Immunogenicity of influenza vaccine (1993-94 winter season) in HIV-seropositive and – seronegative ex-intravenous drug users. *Vaccine.* 1997; 15: 97-102
- [56] Jefferson T, Bianco E, Demicheli V: Influenza vaccines in adults. *Occup. Med.* 2002; Vol. 52 No. 5: 255-258
- [57] Jefferson T, Rivetti D, Rivetti A, Rudin M, Di Petrantonj C, Demicheli V: Efficacy and effectiveness of influenza vaccines in elderly people: a systematic review. *Lancet* 2005; 366: 1165-1174

- [58] Jefferson T, Demicheli V, Rivetti D, Jones M, Di Pietrantonj C, Rivetti A: Anti-virals for influenza in healthy adults: systematic review. *Lancet* 2006; 367: 303-313
- [59] Jong de M, Hien T: Avian influenza A (H5N1). *Journal of clinical virology* 2006; 35: 2-13
- [60] Jordan R, Connock M, Albon E, Fry-Smith A, Olowokure B, Hawker J, Burls A: Universal vaccination of children against influenza: Are there indirect benefits to the community? A systematic review of the evidence. *Vaccine* 2006; 24: 1047-1062
- [61] Kaine J, Kivitz A, Birbara C, Luo A: Immune response following administration of influenza and pneumococcal vaccines to patients with rheumatoid arthritis receiving adalimumab. *J Rheumatol.* 2007; 34: 272-279
- [62] Kanakoudi-Tsakalidou F, Trachana M, Pratsidou-Gertsis P, Tsitsami E, Kyriazopoulou-Dalaina V: Influenza vaccination in children with chronic rheumatic diseases and long term immunosuppressive therapy. *Clin Exp Rheumatol.* 2001; 19: 589-594
- [63] Kapetanovic M, Saxne T, Nilsson J, Geborek P: Influenza vaccination as model for testing immune modulation included by anti-TNF and methotrexate therapy in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology* 2007; 46: 608-611
- [64] Keshtkar-Jahromi M, Argani H, Rahnavardi E, Shahnaz A, Tara S, Gachkar L, Noori-Froothghe A, Mokhtari-Azad T: Antibody response to influenza immunization in kidney transplant recipients receiving either azathioprine or mycophenolate: A controlled trial. *Am J Nephrol.* 2008; 28: 654-660
- [65] Kroon F, Rimmelzwaan G, Roos M, Osterhaus A, Hamann D, Miedema F, van Dissel J: Restored humoral response to influenza vaccination in HIV-infected adults treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS.* 1998; 12: 217-223
- [66] Künzel W, Glathe H, Engelmann H, van Hoecke C: Kinetics of humoral antibody response to trivalent inactivated split influenza vaccine in subjects previously vaccinated or vaccinated for the first time. *Vaccine* 1996; 14: 1108-1110
- [67] Kunisaki K, Janoff E: Influenza in immunosuppressed populations: A review of infection, frequency, morbidity, mortality, and vaccine responses. *Lancet Infect Dis.* 2009; 9: 493-504
- [68] Lange W, Vogel G, Uphoff H: Influenza, Virologie, Epidemiologie, Klinik, Therapie und Prophylaxe. Blackwell-Wiss.-Verlag, Berlin 1999

- [69] Liddle B, Jennings R: Influenza vaccination in old age. *Age and ageing* 2001; 30: 385-389
- [70] Liu J: Avian influenza – a pandemic waiting to happen? *J Microbiol Immunol Infect* 2006; 39: 4-10
- [71] Lu Y, Jacobson D, Ashworth L, Grand R, Meyer A, McNeal M, Gregas M, Burchett S, Bousvaros A: Immune response to influenza vaccine in children with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104: 444-453
- [72] Machado C, Cardoso M, da Rocha I, Boa L, Dulley F, Pannuti C: The benefit of influenza vaccination after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2005; 36: 897-900
- [73] Madjid M, Aboshady I, Imran A, Silvio L, Ward Casscells S: Influenza and cardiovascular diseases. *Tex Heart Inst J* 2004; 31: 4-13
- [74] Mamula P, Markowitz J, Piccoli D, Klimov A, Cohen L, Baldassano R: Immune response to influenza vaccine in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007; 5: 851-856
- [75] Mazza J, Yale S, Arrowood J, Reynolds C, Glurich I, Chyou P, Linneman J, Reed K: Efficacy of the influenza vaccine in patients with malignant lymphoma. *Clinical medicine and research* 2005; 4: 214-220
- [76] Meier C, Jick S, Derby L, Vasilakis C, Jick H: Acute respiratory-tract infections and risk of first-time acute myocardial infarction. *Lancet* 1998; 351: 1467-1471
- [77] Miotti P, Nelson K, Dallabetta G, Farzadegan H, Margolick J, Clements M: The influence of HIV infection on antibody response to a two-dose regime of influenza vaccine. *Journal of the American Medical Association*. 1989; 262: 779-783
- [78] Monteiro J, Harvey C, Trinchieri G: Role of interleukin-12 in primary influenza virus infection. *J Immunol*. 1998; 72: 4825-4831
- [79] Montoya C, Toro M, Aguirre C, Bustamante A, Hernandez M, Arango L, Echeverry M, Arango A, Prada M, Alacron H, Rojas M: Abnormal humoral immune response to influenza vaccination in pediatric type-1 human immunodeficiency virus infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 2007; 102: 501-508
- [80] Musana K, Yale S, Mazza J, Reed K: Practical consideration to influenza vaccination. *Clinical medicine and research* 2004; Vol 2 No 4: 256-257

- [81] Nelson K, Clements M, Miotti P, Cohn S, Polk B: The influence of human immunodeficiency virus (HIV) infection on antibody response to influenza vaccines. *Ann Intern Med.* 1988; 109: 383-388
- [82] Nemeroff M, Utans U, Krämer A, Krug R: Identification of cis-Acting intron and exon regions in influenza virus NS1 that inhibit splicing and cause the formation of aberrantly sedimenting presplicing complexes. *Molecular and Cellular Biology.* Mar. 1992; 962-970
- [83] Neuzil K, Mellen B, Wright P, Mitchel E, Griffin M: The effect of influenza on hospitalizations, outpatient visits, and course of antibiotics in children. *N Engl J Med* 2000; 342: 225-231
- [84] Nichol K, Lind A, Margolis K, Murdoch M: The effectiveness of vaccination against influenza in healthy, working adults. *N Engl J Med* 1995; 333: 889-893
- [85] Nichol K, Nordin J, Mullooly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M: Influenza vaccination and reduction in hospitalization for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med* 2003; 348: 1322-1332
- [86] Nordoy T, Aaberge I, Husebekk A, Samdal H, Steinert S, Melby H, Kolstad A: Cancer patients undergoing chemotherapy show adequate serological response to vaccinations against influenza virus and Streptococcus pneumonia. *Med Oncol.* 2002; 19: 71-78
- [87] Norman J, Montalto D: An office-based approach to Influenza: Clinical diagnosis and laboratory testing. *American family physician*, 2003; 67: Nr. 1
- [88] Ortals D, Liebhaber H, Presant C, Van Amburg A, Lee J: Influenza immunization of adult patients with malignant diseases. *Ann Intern Med.* 1977; 87: 552-557
- [89] Puthillath A, Trump D, Bir A, Romano K, Wisniewski M, Fakih M: Serological immune response to influenza vaccine in patients with colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* Springer Verlag 2010
- [90] Ragni M, Ruben F, Winkelstein A, Spero J, Bontempo F, Lewis J: Antibody response to immunization of patients with hemophilia with and without evidence of human immunodeficiency virus (human T-lymphotropic virus type III) infection. *J Lab Clin Med.* 1987; 109: 545-549
- [91] Sanchez-Fructuoso A, PratsD, Naranjo P, Fernandez-PerezC, Gonzalez M, Mariano A, Gonzalez J, Figueredo M, martin J, Paniagua V, Fereres J, Gomez da la Concha E, Barrientos A; Influenza virus immunization effectivity in kidney

- transplant patients subjected to two different triple-drug therapy immunosuppression protocols: mycophenolate versus azathioprine. *Transplantation*. 2000;69: 436-439
- [92] Scharpe J, Evenpoel P, Maes B, Bammens B, Claes K, Osterhaus A, Vanrenterghem Y, Peetermans W: Influenza vaccination ist efficacious and safer in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2008; 8: 332-337
- [93] Scholtissek C: Pandemic influenza antigen shift, in: *Influenza*. Hg. Potter C.W, Elsevier Science, 2002
- [94] Schroder K, Hertzog P, Ravasi T, Hume D: Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*. 2004; 75: 163-189
- [95] Scott J, Englund J, Myerson D, Geballe A: Influenza a pneumonia presenting as progressive focal infiltrates in a stem cell transplant recipient. *Journal of clinical virology* 2004; 31: 69-99
- [96] Shildt R, Luedke D, Kasai G, El-Beheri S, Laham M: Antibody response to influenza in adult patients with malignant disease. *Cancer* 1979; 44: 1629-1635
- [97] Smith K, Isbel N, Catton M, Leydon J, Becker G, Walker R: Suppression of the humoral immune response by mycophenolate mofetil. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13: 160-164
- [98] Ständige Impfkommission am Robert Koch-Institut: Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut/Stand: Juli 2010, in: *Epidemiologischen Bulletin* 30/2010. Hg. Robert Koch-Institut, Berlin 2010
- [99] Stark K, Günther M, Schönfeld C, Tullius S, Bienzle U: Immunisations in solid-organ transplant recipients. *Lancet* 2002; 359: 957-965
- [100] Steinhauer D: Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. *Virology*. 1999; 258: 1-20
- [101] Steinherz P, Brown A, Gross P, Braun D, Ghavimi F, Wollner N, Rosen G, Armstrong D, Miller D: Influenza immunization of children with neoplastic diseases. *Cancer* 1980; 45: 750-756
- [102] Stephenson I, Nicholson K: Influenza: Vaccination and treatment. *Eur Respir J* 2001; 17: 1282-1293
- [103] Stiver G, Graves P, Meiklejohn G, Schröter G, Eickhoff T: Impaired serum antibody response to inactivated influenza A and B vaccine in renal transplant recipients. *Infection and Immunity*, June 1977: 738-741

- [104] Stiver G, Weinermann B: Impaired serum antibody response to inactivated influenza A and B vaccine in cancer patients. *Can Med Assoc J* 1978; 119: 733-735, 738
- [105] Stiver G: The treatment of influenza with antiviral drugs. *Canadian medical association* 2003; 168: 49-56
- [106] Stojanovick L: Influenza vaccination of patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA). *Clinical and Developmental Immunology*. 2006; 13: 373-375
- [107] Tamura S, Kurata T. Defense mechanisms against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2004; 57: 236-247
- [108] Versluis D, Beyer W, Masurel N, Wenting G, Weimar W: Impairment of the immune response to influenza vaccination in renal transplant recipients by cyclosporine, but not azathioprine. *Transplantation*. 1986; 42: 376-379
- [109] Vigano A, Zucotti G, Pacei M, Erba P, Castelletti E, Giacomet V, Amendola A, Pariani E, Tanzi E, Clerici M: Humoral and cellular response to influenza vaccine in HIV-infected children with full viroimmunologic response to antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008; 48: 289-296
- [110] Webster R: Immunity to influenza in the elderly. *Vaccine* 2000; 18: 1686-1689
- [111] Wong S, Yuen K: Influenza vaccination: Options and issues. *Hong Kong Med J* 2005; 11: 381-390
- [112] Wong S, Yuen K: Avian influenza virus infection in humans. *Chest* 2006; 129: 156-158
- [113] Wutzler P: Influenza-Schutzimpfung – Wo steht Deutschland? *Dtsch Med Wochenschrift*. Georg Thieme Verlag. Stuttgart 2006; 131: 453-457
- [114] Yamanaka H, Teruya K, Tanaka M, Kikuchi Y, Takahashi T, Kimura S, Oka S: Efficacy and immunologic response to influenza vaccine in HIV-1-infected - patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005; 39: 167-173
- [115] Zambon M: Epidemiology and pathogenesis of influenza. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1999; 44: 3-9
- [116] Zanetti A, Amendola A, Besana S, Boschini A, Tanzi E: Safety and immunogenicity of influenza vaccination in individuals infected with HIV. *Vaccine*. 2002; 20 Suppl. 5: B29-32
- [117] Zyl van G: Laboratory diagnosis of human influenza, in: *Influenza Report* 2006. Hg. Kamps B, Hoffmann C, Preiser W, Flying Publisher. Paris 2006

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl und Geschlechterzusammensetzung der teilnehmenden Patienten und Kontrollpersonen.....	24
Abbildung 2: Anzahl und Geschlechterzusammensetzung der einzelnen Patientengruppen.....	24
Abbildung 3: Alter der Patienten und Kontrollpersonen in Jahren.....	25
Abbildung 4: Alter der einzelnen Patientengruppen in Jahren.....	25
Abbildung 5: Lymphozytenzahl von Patienten und Kontrollpersonen vor Immunisierung im peripheren Blut.....	26
Abbildung 6: Lymphozytenzahl der einzelnen Patientengruppen vor Immunisierung im peripheren Blut.....	26
Abbildung 7: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virotech-ELISA.....	30
Abbildung 8: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA.....	30
Abbildung 9: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virotech-ELISA nach Zusammenfassung der Patienten nach solider Organtransplantation sowie der Patienten aus hämatologisch-onkologischen Ambulanz.....	32
Abbildung 10: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA nach Zusammenfassung der Patienten nach solider Organtransplantation sowie der Patienten aus hämatologisch-onkologischen Ambulanz.....	32
Abbildung 11: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virotech-ELISA nach Zusammenfassung aller Patienten nach allogenen Transplantationen.....	33
Abbildung 12: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virotech-ELISA nach Zusammenfassung aller Patienten nach allogenen Transplantationen.....	33
Abbildung 13: Mittlerer Titeranstieg unter bzw. ohne Behandlung mit Mycophenolat mofetil im Virotech-ELISA.....	34

Abbildung 14: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent unter bzw. ohne Behandlung mit Mycophenolat mofetil im Virotech-ELISA.....	35
Abbildung 15: Absolute Lymphozytenzahl der Patienten mit soliden Tumoren des Gastrointestinaltrakts sowie der Patienten mit verschiedenen Malignomen aus der hämatologisch-onkologischen Ambulanz vor und nach Immunisierung.....	36
Abbildung 16: Mittlerer Titeranstieg der HIV-positiven Patienten nach CD4-Zellzahl im Virotech-ELISA.....	37
Abbildung 17: Mittlerer Titeranstieg der rheumatologischen Patienten nach Immunsuppression im Virotech-ELISA.....	38
Abbildung 18: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen im Virion/Serion-ELISA.....	42
Abbildung 19: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent im Virion/Serion-ELISA.....	42
Abbildung 20: Anteil an Personen mit protektivem Titer vor Immunisierung in den einzelnen Patientengruppen in Prozent im Virotech-ELISA.....	45
Abbildung 21: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen abzüglich der Probanden mit vorbestehendem protektiven Titer im Virotech-ELISA.....	47
Abbildung 22: Anteil der Personen mit protektivem Titer in Prozent abzüglich der Probanden mit vorbestehendem protektiven Titer im Virotech-ELISA.....	47
Abbildung 23: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen gegen Influenza A im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA.....	48
Abbildung 24: Mittlerer Titeranstieg der einzelnen Patientengruppen gegen Influenza B im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA.....	48
Abbildung 25: Anteil der Personen mit protektivem Titer gegen Influenza A in Prozent im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA.....	49
Abbildung 26: Anteil der Personen mit protektivem Titer gegen Influenza B in Prozent im Virotech-ELISA versus Virion/Serion-ELISA.....	49

8. Abkürzungen

Abb	Abbildung
APC	Antigen-presenting cell
C5	Komplementfaktor 5
CD4	Cluster of differentiation 4
CD8	Cluster of differentiation 8
CTL	Cytotoxic T-lymphocytes
DNA	Desoxyribonucleic acid
dsRNA	Double-stranded ribonucleic acid
ELISA	Enzyme-linked immuosorbent assay
HA	Hämagglutinin
HIV	Human immunodeficiency virus
IFN	Interferon
IFN- γ	Interferon-gamma
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL-1	Interleukin-1
IL-2	Interleukin-2
IL-4	Interleukin-4
IL-5	Interleukin-5
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
MHC I	Major histocompatibility complex I
MHC II	Major histocompatibility complex II
MMF	Mycophenolat mofetil
mRNA	Messenger ribonucleic acid
NA	Neuraminidase
NALT	Nasopharyngeal assoziiertes Lymphgewebe
NEP	Nuclear export protein
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen

NP	Nukleoprotein
NS 2	non-structural protein 2
PA	Polymerase acidic protein
PB1	Polymerase basic protein 1
PB2	Polymerase basic protein 2
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction
RNA	Ribonucleic acid
RNP	Ribonukleoproteinkomplex
TH1	T-Helferzelle 1
TH2	T-Helferzelle 2
TNF-alpha	Tumor necrosis factor-alpha
WHO	World health organization

9. Lebenslauf

Name: Stefan Platzer

Persönliche Angaben:

Geburtsdatum: 07.11.1980
 Geburtsort: Deggendorf
 Familienstand: verheiratet
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Konfession: römisch-katholisch

Schulbildung:

1987-1991 Grundschole Osterhofen
 1991-2000 St.-Gotthard-Gymnasium Niederalteich

Hochschulbildung:

2000-2006 Studium der Humanmedizin an der
 Universität Regensburg
 2002 Ärztliche Vorprüfung
 2003 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
 2005 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
 2006 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Beruf:

10.10.2006 Approbation als Arzt
 11/2006-2/2007 Assistenzarzt in der Abteilung für Pädiatrie
 der Kreisklinik Altötting
 3/2007-6/2012 Assistenz-/ Facharzt in der Klinik und
 Poliklinik für Pädiatrie der Universität
 Regensburg
 19.04.2012 Anerkennung als Facharzt für Kinder- und
 Jugendmedizin
 9/2012-12/2012 Angestellter Facharzt in der Praxis Dr. med.
 univ. S. Resheq in Osterhofen
 1/2013 Niederlassung in eigener Praxis

10. Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Salzberger für die Überlassung dieses interessanten Themas, die Bereitstellung aller benötigten Ressourcen sowie für seine Geduld und stets freundliche Betreuung.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. Hanses für die ständige Hilfsbereitschaft, die Unterstützung sowie die gute Zusammenarbeit.

Insbesondere aber möchte ich meiner Familie danken, meinen Eltern sowie im besonderen Maße meiner Frau, für die stets uneingeschränkte und vertrauensvolle Unterstützung in allen Belangen.